

10. Leipziger Tierärztekongress

Tagungsband 2

Pferd

**11th International Conference on
Equine Reproductive Medicine**



Leipziger Blaue Hefte

Zitation dieses Bandes:

LBH: 10. Leipziger Tierärztekongress – Tagungsband 2

urn:nbn:de:bsz:15-qucosa2-349997

Editoren: Dr. Reiko Rackwitz

Albrecht-Daniel-Thaer-Institut für Agrar- und Veterinärwissenschaften e.V., Universität Leipzig

Prof. Dr. Michael Pees

Klinik für Vögel und Reptilien, Universität Leipzig

Prof. Dr. Jörg R. Aschenbach

Institut für Veterinär-Physiologie, Freie Universität Berlin

Prof. Dr. Gotthold Gäbel

Veterinär-Physiologisches Institut, Universität Leipzig

Facheditoren dieses Bandes:

Prof. Dr. W. Brehm

Prof. Dr. H. Sieme

Dr. G. Möbius

Prof. Dr. I. Vervuert

Redaktionsleitung:

Dr. Reiko Rackwitz, Albrecht-Daniel-Thaer-Institut für Agrar- und Veterinärwissenschaften e.V.,
Universität Leipzig

An den Tierkliniken 7, 04103 Leipzig

blaue-hefte@uni-leipzig.de

Gestaltung:

Dr. Reiko Rackwitz

Lektorat:

Melanie Dolezal, Birte Emmelmann, Marie Leopold, Aimeé Lieberum, Theresa Neubert, Magdalena Schollmeyer, Lennart Schück – Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig

Das Copyright der Manuskripte liegt bei den Autoren

Editorial

Der 10. Leipziger Tierärztekongress ist ein fantastisches Jubiläum. Durch den anfangs dreijährigen Turnus steht es für mehr als 20 Jahre breitgefächerte, aktuelle und praxisnahe Fort- und Weiterbildung in der Tiermedizin.

Und bereits zum siebten Mal erscheinen die Leipziger Blauen Hefte als Publikationsmedium der Beiträge zum Kongress. Wie der Kongress selbst hat auch diese Publikation in den vergangenen Jahren einige Modifikationen erlebt: vom einbändigen Werk mit 211 Beiträgen zur dreibändigen Ausgabe mit fast 500 Artikeln; von der kiloschweren Druckausgabe zur überall verfügbaren elektronischen Publikation. Letztere ermöglicht auch die einfache Wiedergabe farbiger Abbildungen. So sind die Leipziger Blauen Hefte nicht nur umfangreicher, sondern auch ein wenig bunter geworden. Aber nach wie vor bilden die enthaltenen Artikel alle Themen des Leipziger Tierärztekongresses umfassend und ansprechend ab. Dabei ist unser Anliegen, den Teilnehmern des Kongresses durchaus umfangreichere Informationen zur Verfügung zu stellen, die eine Lektüre der Bände auch nach dem Kongress lohnenswert machen. Um eine individuelle thematische Vertiefung zu ermöglichen, sind die Manuskripte vielfach mit Literaturnachweisen versehen.

Durch die Zusammenarbeit mit der Universitätsbibliothek der Universität Leipzig wird diese Ausgabe zudem dauerhaft und zitierfähig hinterlegt. Bitte beachten Sie bei Bedarf die Hinweise zur Zitation.

Ein großes Dankeschön gilt allen, die an der Umsetzung dieses Bandes beteiligt waren. Erst das herausragende Engagement jedes Einzelnen hat diese Publikation ermöglicht.

Wir wünschen Ihnen, als Besucher des Kongresses, eine spannende und erfolgreiche Veranstaltung, angenehme Tage in Leipzig sowie viel Freude mit den Leipziger Blauen Heften!

Leipzig, November 2019

Dr. Reiko Rackwitz

Prof. Dr. Michael Pees

Prof. Dr. Jörg R. Aschenbach

Prof. Dr. Gotthold Gäbel

Inhaltsverzeichnis

Pferd	7
Forensik	
Ethik der Euthanasie des Pferdes	8
Peter Kunzmann	
Konfliktsituationen bei der Euthanasie in der Pferdepraxis	11
Andre Kleinpeter	
Tierschutzrecht und Euthanasie des Pferdes aus Sicht der Veterinärbehörde	14
Claudia Canz	
Aktuelle Rechtslage zu Tierschutzrecht und Euthanasie von Tieren	20
Kai Bemann	
Die erforderliche Sorgfalt bei Verdacht auf Knochenverletzung	21
Doreen Scharner	
Beweislastumkehr aus Gerechtigkeitsgründen	23
Kai Bemann	
MRT Diagnostik beim Pferd	
Grundlagen der MRT Diagnostik beim Pferd	24
Kerstin Gerlach	
MRT Diagnostik und Therapie des Fesselträgerursprunges	29
Birte Drees	
MRT Diagnostik und Therapie des Fesselgelenkes	30
Franziska Kremer, Mahmoud Mageed	
MRT Diagnostik und Therapie der Fesselbeuge	34
Birte Drees	
MRT Diagnostik und Therapie des Hufes	35
Andre Böhmer	
Rechtliche Aspekte der MRT Diagnostik beim Pferd	39
Hartmut Gerhards	
Hauterkrankungen	
Untersuchung und Diagnostik bei Hauterkrankungen - ein Update für die Praxis	40
Marianne M. Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan	
Sommerekzem - Pathogenese und Immunmechanismen	45
Bettina Wagner	
Neue Therapiemethoden bei Equinen Sarkoiden	47
Judith Christine Winter, Johanna Loschelder, Heidrun Gehlen	
Therapeutische Impfung mit tumorassoziierten Antigenen - eine klinische Studie bei equinen Melanomen	50
Jessika Cavalleri, J. Echelmeyer, R. Peckary, K. Feige	
Hauterkrankungen der distalen Gliedmaßen	51
Marianne M. Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan	

Hauterkrankungen - Fallvorstellungen und Diskussion	56
Corinna Arnold, Albrecht Uhlig, Katharina Lohmann	

Orthopädische Chirurgie

Fortschritte in der Osteosynthese beim Pferd	58
Anton Fürst	
Neues System für die intramedulläre Osteosynthese beim Pferd	61
Dirk Barnewitz, Jan J. Lang, Werner Hauer	
Desmotomie des Unterstützungsbandes zur Tiefen Beugesehne - Indikationen, Operationstechnik und klinische Ergebnisse	64
André Kleinpeter	
Indikationen und Techniken von Arthrodesen beim Pferd	67
Christoph Lischer	
Arthrodesse des Proximalen-Interphalangeal-Gelenkes beim Pferd: ein biomechanischer Vergleich zweier unterschiedlicher LCP-Systeme	71
Aleksandar Vidović, Dorothea Jansen, Stefan Schwan, Alexander Goldstein, Christopher Ludtka, Walter Brehm	
Erste Anwendungen des neuen Kyon PIP Arthrodesse-Systems beim Pferd	72
Walter Brehm	

Das kranke alte Pferd

TVT-Merkblatt zur Haltung alter Pferde	73
Angela Schwarzer, Andreas Franzky, Kristina Pietrow	
Das geriatrische Pferd aus internistischer Sicht	76
Katja Roscher	
Wie man sich bettet so liegt man - Schlafstörungen beim alternden Pferd	80
Anna-Caroline Wöhr	
Ernährung: Alte Pferde müssen nicht mager sein!	81
Kathrin Irgang	
Haltung: Alte Pferde dürfen nicht zu kurz kommen!	86
Margit H. Zeitler-Feicht, Miriam Baumgartner	
Wenn der Amtsschimmel altert: Das alte Pferd im amtstierärztlichen Focus	89
Friederike Hänsch, Sarah Winkelsett	
Gnadenhöfe - Chancen und Risiken	92
Sarah Winkelsett, Friederike Hänsch	
Spannungsfeld Euthanasie bei alten Pferden: Gründe für das Einschläfern	94
Karsten Feige, Peter Kunzmann, Sabine Kästner	

Haut, Haar, Horn - Was leistet die Fütterung

Was verbirgt die Haut?	97
Jule Kristin Michler	
Versorgung mit Kupfer, Zink und Selen, was ist zu beachten?	99
Franziska Bockisch	
Wie gut reflektieren Haaranalysen die Nährstoffversorgung?	103
Katja Roscher	
Wenn´s juckt: Wie gut sind Allergietests?	106
Bettina Wagner	

Wenn's juckt: Wie gut funktioniert die Desensibilisierung?.....	109
Bettina Wagner	
Was kostet der Huf?	112
Conny Herholz, Salome Wägeli, Christoph Kopp und André Estermann	
Wie gut sind kommerzielle Ergänzungsfuttermittel zur Verbesserung der Hufhornqualität?	115
Ingrid Vervuert	
Fälle aus der Praxis I – Wenn's juckt!.....	118
Kira Gehrke	
Fälle aus der Praxis II – Wenn das Fell ausfällt!	121
Katja Roscher	

Hufkunde: Der Fesselträger

Spezielle Anatomie und Histologie des M. interosseus medius.....	122
Christoph K.W. Mülling	
Pathogenese der Erkrankung des M. interosseus medius.....	125
Uta Delling	
Chirurgische Therapieansätze bei Erkrankung des M. interosseus medius	126
Michael Röcken	
Regenerativmedizinische Therapieansätze bei Erkrankung des M. interosseus medius	127
Florian Geburek	
Alternative Therapieansätze bei Erkrankung des M. interosseus medius	128
Mathilde Pluim, Katrien Vanderperren, Ann Martens, Rene Van Weeren, Jeroen Dewulf, Catherine Delesalle	
Orthopädische Therapiekonzepte zur unterstützenden Behandlung bei Erkrankung des M. interosseus medius und der Beugesehnen - Wirkung und Limitationen	132
Jenny Hagen, Daniela Mäder, Sandra Geiger, Kaid Kojah	

Lahmheit des Pferdes

Asymmetrie oder Lahmheit? Erkenntnisse durch sensorbasierte Bewegungsanalyse.....	140
Vasiliki Katrinaki	
"Lahmheiten" ausgehend von Störungen im oberen Bewegungsapparat.....	144
Nadine Blum	
Natürliche Bewegungsasymmetrien - Ursache und Manifestation in Gliedmaßenführen, Rückenlinie und Kopf-/Beckenbewegung	148
Jenny Hagen	

Erkrankungen der Gelenke

Von der Ultrastruktur zum therapeutischen Konzept	153
Antonia Troillet, Walter Brehm	
Grundlagenarbeiten zum Einsatz von autologem konditioniertem Serum zur Therapie der Osteoarthritis des Pferdes	156
Juliane Lasarzik de Ascurra	
Die erste arzneimittelrechtlich zugelassene Zelltherapie zur Gelenkbehandlung beim Pferd.....	159
Jan H. Spaas, Charlotte Beerts, Sarah Y. Broeckx	

Innere Medizin

Equine Asthma, review and novel findings on inflammation and anti-inflammatory therapy.....	163
Jean-Pierre Lavoie	

Atemwegsdiagnostik beim Pferd einschließlich BAL – ein Update für die Praxis	166
Judith Christine Winter	
Inhalation therapy: Effects of the prodrug ciclesonide administered with a novel device in severe equine asthma.....	169
Jean-Pierre Lavoie	
Herausforderungen bei der Diagnostik von Nierenerkrankungen beim Pferd: Ist SDMA die Lösung?	172
Anastasios Moschos	
Umgang mit Antibiotikaresistenzen in Praxis und Klinik	174
Heidrun Gehlen	
Keime im Griff - Händedesinfektion ist wichtig, aber oft unterschätzt!	177
Stephanie Speck, Tina Rocktäschel, Christiane Cuny, Walter Brehm, Uwe Truyen	
Diagnostic approach to the ataxic horse	180
Amy L. Johnson	
Borna - Verlaufsformen bei Pferd und Mensch	183
Kaspar Matiassek	
Die chronisch-persistierende Infektion des EHV-1	185
Lutz S. Göhring, Kim Giessler, Susanna Samoilowa	
Untersuchungen zur Epidemiologie der EHV-1 Infektionen	187
Eva Klouth, Lutz S. Göhring	
Fact or fiction? - Equine Lyme Neuroborreliosis	189
Amy L. Johnson	
Neurologische Fälle - Fallvorstellungen und Diskussion.....	192
Amy Johnson, Lutz Göhring	
11th International Conference on Equine Reproductive Medicine	193
Warmblood Fragile Foal Syndrome (WFFS) results in pregnancy loss in mares	194
Christine Aurich	
Epididymal sperm harvesting and preservation	196
Stefanie Neuhauser, Johannes Handler	
Timing and frequency of AI with chilled and frozen semen in the mare	199
Tom Stout	
Immunization against GnRH in stallions	202
Dominik Burger	
Clinical applications of anti-Müllerian hormone assay in mares and stallions.....	205
Anthony Claes, Tom Stout	
Progestins in studfarm practice.....	209
Mats HT Troedsson and Carleigh E Fedorka	
Diagnosis of subfertile mares - does the use of molecular biological methods make sense?	212
Katharina Weber, Karen Wagener, Miguel Blanco, Marc Stevens, Stefan Bauersachs, Heinrich Bollwein	
Characteristics of equine endometrial <i>Streptococcus</i> infections.....	215
Jesper Møller Nielsen	

Pathogenesis of chronic endometrial fibrosis – What do we know?	217
Ferreira-Dias Graca, Rebordão MR, Pinto-Bravo P, Szóstek-Mioduchowska AZ, Skarzynski DJ	
Current vitrification techniques for equine embryos	220
Sandra Wilsher, Florencia Rigali, WR (Twink) Allen	
How to diagnose and manage anovulatory follicles in the mare	227
Juan Cuervo-Arango	
Therapeutic practices, clinical reproductive findings and diagnostic options for investigating pregnancy loss in intensively managed Thoroughbred mares	229
Amanda M de Mestre, Jessica Roach, Anne Kahler, Charlotte Shilton	
How to cope with placentitis.....	234
Dale Paccamonti	
Understanding the host immune response to equine pregnancy	237
Carleigh E. Fedorka, Shavahn C. Loux, Kirsten E. Scoggin, Mats H.T. Troedsson, Barry A. Ball	
Current research on early pregnancy loss	240
Claudia Klein	
Caesarean section - decision-making, procedures and results	243
Claus P. Bartmann	
Retained Fetal Membranes.....	247
James R. Crabtree, Rory K. Gormley	
New protocols for induction of lactation in the mare and fostering of the newborn foal	253
Peter Daels, Pouya Dini	



Schwerpunkt Pferd

Rackwitz R, Pees M, Aschenbach JR, Gäbel G (Hrsg.)
LBH: Proceedings 10. Leipziger Tierärztekongress – Tagungsband 2

Ethik der Euthanasie des Pferdes

Peter Kunzmann

Institut für Tierhygiene, Tierschutz und Nutztierethologie, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

Was heißt hier Ethik?

Einfach nur Wertungen über gutes und richtiges Handeln und dessen Gegenteil sind noch nicht Ethik. Solche „seien sie in Werturteilen ausgesprochen oder im praktischen Lebensvollzug realisiert, darf man zunächst als Moral bezeichnen“ [1]. Ethik als „Reflexion auf die Prinzipien guten Handelns“ unterscheidet sich von der Moral dadurch, dass einzelne Handlungen oder Handlungsoptionen, nicht mehr intuitiv beurteilt werden, sondern nach Gründen. Der Handelnde folgt nicht mehr ungefragt übernommenen Normen und Leitbildern. „Damit kommt der Ethik in ihrem Verhältnis zur Moral eine doppelte Rolle zu, nämlich einerseits, die meist im Lebensvollzug versteckten Wertungsmuster überhaupt auszusprechen und zu deuten, sie andererseits zu systematisieren und sie auf ihre Konsistenz, ihre Plausibilität und auf ihren Anspruch auf Geltung hin zu bewerten“ [1].

Eine wesentliche Rolle dabei spielt die Analyse und die Bearbeitung von Konflikten. Vor allem aus ihnen entsteht die Notwendigkeit, die eigene moralische Überzeugung argumentativ zu prüfen, sie dadurch zu stärken, oder auch sie zu verwerfen. Konflikte sind klassische Sollbruchstellen der Moral. „Ethik hat mit Konsens zu tun. Ihr konkreter Stoff aber sind Konflikte,“ schrieb der bedeutende Ethiker T. Rendtorff [2]. Gerade die sogenannte angewandte Ethik ist methodisch stark auf Konflikten basiert [3]. Es sind u.a. erweiterte technische oder medizinische Möglichkeiten, die die Frage aufwerfen, wo sinnvolle Grenzen zu ziehen sind.

Wie Interessenskonflikte bei den Beteiligten, dem Tierhalter, dem Tierarzt und dem Tier selbst [4], gesehen werden, hängt auch davon ab, welchen Rang der tierärztliche Partner diesen jeweiligen Interessen zuschreibt. Die Verpflichtung auf den Tierschutz in den MBOs, weist hier eine klare Richtung: Tierärztliches Handeln muss zuerst Maß nehmen an den Interessen der tierlichen Patienten. Konsens zwischen Tierarzt und Tierhalter allein reicht nicht zur Legitimation aller Handlungen. Ein „Deal“ zwischen den menschlichen Interessenten kann unmoralisch sein, wenn dieser Interessen des Tieres verletzt.

Das Spannungsfeld von Lebensschutz und Leidensvermeidung

Die [legale] Tötung durch Tierärzte steht im Wesentlichen zur Diskussion, da Menschen sie zum [mutmaßlichen] Vorteil der Tiere durchführen, dann nämlich, wenn den Tieren damit erhebliche Leiden erspart bleiben. Das bedeutet Euthanasie im vollen Sinne. Das Leiden von Tieren zu mindern ist ein „vernünftiger Grund“. Das TierSchG nennt das Leben des Tieres, neben seinem Wohlbefinden, als obersten Wert im Einklang mit weithin geteilten moralischen Intuitionen. Ein Weiterleben unter Schmerzen oder Leiden kann, als das größere Übel, mehr wiegen, als der Tod als „schwerster Schaden“ (vgl. BVerwG, 18.06.1997, Az.: 6 C 5/96; Nr. 47). Es kann der Fall sein, „dass der Tod für das betroffene Lebewesen ein ‚Gut‘ ist“ [5]. Höchststrichterliche Rechtsprechung erklärt das richtige Töten zum rechten Zeitpunkt zum Teil der tierärztlichen Kunst (BGH Urt. v. 19.01.1982, Az.: VI ZR 281/79).

Wer das Leben eines Tieres beendet, braucht dafür einen guten, einen „vernünftigen Grund“, wie das dt. TierSchG es nennt. „Für die Euthanasie bedeutet dies Rechtfertigungspflicht, sowohl für die Verkürzung von Leben, wie für die Zumutung von Leiden. Der Tierarzt kann hier nicht wissen, welches Übel für das Tier das größere ist, selbst wenn er dessen Zukunft vorhersehen könnte: Diese Abwägung bedeutet, eine Entscheidung zu treffen.“ [6].

Der letzte Satz führt zu einer anderen grundsätzlichen Überlegung, die auch die Entstehung [7] und den Inhalt [6] der „Entscheidungshilfe“ durchgezogen hat, die in Zusammenarbeit zwischen Herfen, Kunzmann et al. und einigen LTK entstanden ist. Es geht in ihr darum, klarzumachen, an welchen Stellen Entscheidungen nötig sind, und in welcher Bandbreite sie getroffen werden können. Sie ist am Kleintier konzipiert, aber in wichtigen Teilen auch für Pferde anwendbar. Eine erste echte Entscheidung fußt auf der Prognose des Tierarztes, von der alles Weitere abhängt: Ist das Leben, das der Tierarzt für das Tier voraussieht, diesem Tier „zuträglich“? Die Kriterien zu verankern im Zustand und im Zukunftshorizont des Tieres, ist selbst eine fundamentale ethische Entscheidung. Die Entscheidung wird gerade nicht primär als „Interessenausgleich“ mit der Perspektive des Halters angelegt. Die „Entscheidungshilfe“ realisiert, was Clutton [8] in die hübschen Worte fasste: “[it] prioritises concerns with animal suffering over the veterinarian-client relationship and other niceties.” Die „Entscheidungshilfe“ ordnet den Konsens zwischen Tierhalter und Tierarzt, dem Wohl des Tieres als Maßstab der Entscheidung unter. Dessen größtmögliche Realisierung ist die unabdingbare Bedingung, wovon alles andere abhängen soll.

Ist eine zuträglichkeit Zukunft für das Tier in Sicht, fragt die Entscheidungshilfe, ob die „Kosten“ (im weitesten Sinne) für den Tierhalter zu hoch sein könnten. Therapien brauchen Ressourcen unterschiedlicher Art (Geld, Zeit, Arbeit) [6], die der Halter aufzubringen hat. Der ethische Grundsatz, den auch das Tierschutzrecht festhält: Wer ein Tier hält, „muss das Tier [...] seinen Bedürfnissen entsprechend angemessen [...] pflegen.“ (§ 2 Abs. 1 TierSchG)). Damit liegt die Verpflichtung beim Tierhalter, auch die medizinische Versorgung des Tieres zu sichern.

Töten aus Kostengründen – das Beispiel Kolik

Die Entscheidungshilfe bezeichnet es als „*ultima ratio*“, wenn dem Tier das Leben aus Gründen genommen wird, die nicht in ihm selbst, sondern in den sozioökonomischen Verhältnissen seiner menschlichen Umgebung begründet liegen. [6]. Eine Obergrenze für das Zumutbare, festgelegt etwa in Euro, legt sie nicht fest. Man kann mit dem Gedanken spielen, eine solche Obergrenze vielleicht durch Vergleich mit den „normalen Kosten“ einer Tierhaltung zu ermitteln; sagen wir: das Zehnfache dessen, was der monatliche Unterhalt dieses Tieres üblicherweise kostet. Prinzipiell gilt: Das Töten des Tieres ist nur gerechtfertigt, wenn die Kosten seines Weiterlebens für den Halter unzumutbar zu tragen oder objektiv unmöglich zu erbringen sind.

Die Entscheidungshilfe arbeitet eine Kaskade heraus, in welcher Reihenfolge die Fragen zu beantworten sind: wo, wer was entscheiden muss, unter Hinweis auf die Grenzen dieser Entscheidungsfreiheit bzw. dieses Entscheidungszwangs. Notwendigerweise wird an mindestens zwei Stellen eine Entscheidung unumgänglich: ob wir nämlich das künftige Leben eines Tieres für zuträglich halten und ob wir die Kosten für den Erhalt dieses Lebens definitiv für unzumutbar für den Menschen halten.

Eine Kolikoperation ist z.B. eine intensivmedizinische Maßnahme, die zwangsläufig mit einem hohen finanziellen Aufwand verbunden ist, den Pferdebesitzer oft nicht tragen wollen oder können. Scheinbar stehen wir damit vor einer Dilemma-Situation, denn weder die unbezahlte Durchführung der Operation, noch das Töten eines an sich therapierbaren Pferdes sind wünschenswerte Optionen.

Um das Dilemma aufzulösen, haben wir, mit Karsten Feige zusammen, vorgeschlagen, die beiden Seiten des Dilemmas getrennt und hintereinander zu betrachten.

Dabei ist als erstes festzuhalten: Dem Tierarzt ist es nicht zuzumuten, eine Operation durchzuführen, wenn die Kosten vom Tierbesitzer nicht getragen werden, da er sich dem Risiko eines erheblichen wirtschaftlichen Schadens aussetzt. Auch wenn man die tierärztliche Pflicht innehat, Tieren in Notsituationen beizustehen, übersteigt die Kolik-Operation den Umfang einer solchen Verpflichtung. Wenn der Tierarzt an dieser Stelle entsprechend nicht operiert, bleibt immer noch ein akut, heftig leidendes Pferd. Unter diesen Voraussetzungen ist die schmerzlose Tötung zur

Beendigung des tierlichen Leidens zu rechtfertigen. Darin liegt keine Umgehung des Prinzips, nach dem die Euthanasie nur die ultima ratio darstellen kann.

Rechtlich und moralisch ist in erster Linie der Pferde-Besitzer gefordert, das für eine adäquate Versorgung seines Tieres Notwendige sicherzustellen. Tut er das nicht, muss konsequenterweise eine Meldung an das staatliche Veterinäramt erfolgen, da es sich um einen Verstoß gegen § 2 Nr. 1 des Tierschutzgesetzes handelt. Wenn der Tierbesitzer nicht gewillt oder in der Lage ist, sein Pferd entsprechend diesen Vorgaben zu halten, muss amtlicherseits über ein Tierhalte-Verbot entschieden werden, um vergleichbare Fälle in Zukunft zu vermeiden.

Jedenfalls kann der Patientenbesitzer seine Obliegenheiten nicht auf den Tierarzt abwälzen.

Ethische Grundsätze

Für die Euthanasie allgemein haben die „Empfehlungen zur Umsetzung des Ethik-Kodex der Tierärztinnen und Tierärzte Deutschlands“ (unter I, 13) aus der Schweiz die dichte Formel übernommen „3.4 Der Tierarzt und die Tierärztin führen eine Euthanasie nach den Regeln der medizinischen Kunst, nach einer präzisen Diagnose und Prognose, unter Einbezug der Lebensqualität des Tieres und mit Respekt gegenüber dem Tier und dem Besitzer oder der Besitzerin durch; sie lehnen sowohl eine Leidensverlängerung wie eine Lebensverkürzung allein auf Wunsch des Besitzers oder der Besitzerin ab.“. Sie enthält die leitenden Gesichtspunkte, sie enthält auch eine deutliche Grenzziehung für die Befugnisse des Tierhalters [und des Tierarztes]: Für einen Deal zwischen diesen beiden gibt es Grenzen: Der Wunsch des Besitzers oder der Besitzerin ist nicht „suprema lex“. Damit, und in ihren sonstigen Bestimmungen, nennt sie dicht die Kriterien, die auch die „Entscheidungshilfe“ entfaltet hat.

Literatur

1. Knoepffler N, Kunzmann P. Argumentative Dimension in der ethischen Bewertung der Gentechnik. In: Müller-Roeber B et al. Herausgeber. Zweiter Gentechnologiebericht. Berlin: Berlin- Brandenburgische Akademie der Wissenschaften; 2009. S. 384-419.
2. Rendtorff T. Vom Beruf der Ethik. Nachrichten der Evangelisch-Lutherischen Kirche in Bayern. Anselm; 1999; 54: 161-167.
3. Anselm R. Konflikt und Konsens. Ethische Aspekte zur Auseinandersetzung um den 'Dritten Weg'. In: Anselm R, Hermelink J Herausgeber. Der Dritte Weg auf dem Prüfstand. Göttingen: Universitätsverlag Göttingen; 2006. S.143-156.
4. Fordyce P. Welfare, law and ethics in the veterinary intensive care unit. Veterinary Anaesthesia and Analgesia. 2017; 44: 203-211.
5. Ach J. Ethische Aspekte der Sterbehilfe bei Tieren. In: Hoff T, Buck-Werner O, Fürst A Herausgeber. Tierärztliche Sterbehilfe bei Tieren. 2 Aufl. Berlin: schaefermueller publishing GmbH; 2013. S. 8-14.
6. Herfen K, Kunzmann P, et al. Entscheidungshilfe zur Euthanasie von Klein- und Heimtieren. 2018; Kleintier Konkret 21: 35-40.
7. Herfen K. Tod eines Heimtiers: Entscheidungshilfe zur Euthanasie. In: DVG Herausgeber. Tagung der DVG-Fachgruppen „Ethologie und Tierhaltung“ und „Tierschutz“. Gießen; 2017. S. 175-178.
8. Clutton E. Recognising the boundary between heroism and futility in veterinary intensive care. Veterinary Anaesthesia and Analgesia. 2017; 44[2]: 199-202.

Kontakt

Prof. Dr. Peter Kunzmann, Angewandte Ethik in der Tiermedizin, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
Peter.Kunzmann@tiho-hannover.de

Konfliktsituationen bei der Euthanasie in der Pferdepraxis

Andre Kleinpeter

Tierklinik Alt Sammit, Alt Sammit

In der praktischen Pferdemedizin ergeben sich eine Reihe von Konfliktsituationen im Zusammenhang mit der Euthanasie. Deren Lösung ist zur unbedingten Erzielung einer Handlungsfähigkeit notwendig.

Persönlichkeitsstruktur und Sozialisierung der beteiligten Personen haben entscheidenden Einfluss auf das Konfliktverhalten und die Konfliktlösungsstrategien wie Durchsetzungsvermögen, Akzeptanz, Kompromiss und Konsensfindung.

Der rechtliche Rahmen, in dem sich eine Euthanasie bewegt, ist vorgegeben. Das Tierschutzgesetz bildet die Rechtsgrundlage. Der Mensch trägt Verantwortung für das Leben und Wohlbefinden der Tiere. Schmerzen, Leiden und Schäden sind den Tieren ohne vernünftigen Grund nicht zuzufügen (§ 1 TSchG). Nur der vernünftige Grund, als derzeit vom Gesetzgeber vorgegebenes Kriterium, legitimiert das Zufügen erheblicher, länger andauernder und wiederholter Schmerzen.

Der Tierschutzbericht der Bundesregierung 1999 besagt, dass bei erheblichen, nicht zu lindernden Schmerzen und Leiden die Verpflichtung des Tierarztes zur Tötung des Tieres besteht.

In der Praxis stellt die Patientenzielgruppe Pferd einen rechtlichen Sonderfall dar. Das Pferd kann aufgrund der Zuordnung zu einem arzneimittelrechtlichen Status der Gruppe der landwirtschaftlichen Nutztiere oder auch der der sogenannten „companion animals“ (Hobbytiere) zugeordnet werden. Dabei zählt das Pferd mit Geburt als landwirtschaftliches Nutztier und kann damit entsprechend der Gesetze und Verordnungen zur Proteinverwertung im ökonomischen Sinne verwendet werden. Diese Zuordnung eröffnet den Parteien den Weg der Beendigung des Lebens auch mit niedrigen medizinischen Diagnoseschwellen, insofern die Vorgaben des Fleischhygienerechtes, der Tierschutzschlachtverordnung sowie des Tierschutzgesetzes eingehalten werden.

Im Umkehrschluss besteht jedoch nicht eine Gleichsetzung der Euthanasie mit der Schlachtung als Äquivalent zur Vermeidung der bedürfnisentsprechend angemessenen Versorgung, Ernährung und Unterbringung von geriatrischen und sportuntauglichen Pferden. Das heißt, dass auch für ein Pferd, welches als landwirtschaftliches Nutztier eingestuft ist, nicht die gesetzlichen und ethischen Hürden der Euthanasie im Hinblick auf die ökonomische Sinnhaftigkeit seiner Haltung einfach unterschritten werden können.

In der praktischen tierärztlichen Tätigkeit zeigen sich entsprechend der Pluralität der Gesellschaft verschiedenste Konfliktszenarien.

Konfliktgegenstand ist meist ein Interessengegensatz. Dahinter stehen oft verschiedene Werte, die zu unterschiedlichen Beurteilungen, Gefühlen und Zielen führen, aus denen die Konfliktparteien gegensätzliches Verhalten ableiten. Wenn kein solcher Interessengegensatz gefunden werden kann, handelt es sich oft um keinen Konflikt, sondern lediglich um ein Missverständnis aufgrund fehlender, falscher oder falsch verstandener Information (1)).

Unter diesem Aspekt lassen sich vor allem Situationen zwischen Tierarzt und Tierhalter finden, welche eher in die Rubrik Missverständnisse fallen. Fehlende Informationen über Gesetze und Verordnungen lassen häufig Eigentümer und Tierärzte von falschen Voraussetzungen ausgehen. Das gilt oft für den Fall der arzneimittelrechtlichen Einordnung der Pferde und der Möglichkeit einer Euthanasie aus wirtschaftlichen Gründen. Aktive Information aus allen Bereichen des organisierten

Pferdesports und aus den Pferdepraxen kann im Vorfeld zu einer Meinungsbildung und Entscheidungen führen.

Vor allem zeitnahe Informationsgespräche mit den Beteiligten bei aufwändigen Behandlungen sind, sinnvollerweise durch den behandelnden Tierarzt, zu realisieren.

Konflikte sind oft kompliziert miteinander verbunden. Sie können sich überlappen und sind in der Analyse des Einzelfalls durch den Tierarzt schwer zu entzerren. Er hat letztlich die zentrale und aktive Rolle in jedem Einzelfall einzunehmen.

Ökonomische Interessen bilden oft den zentralen Konflikt (Ressourcenkonflikt).

Die ethische sowie rechtliche Therapieverpflichtung eines Tierhalters ist derzeit nicht geklärt (2). Grundsätzlich kann davon ausgegangen werden, dass eine Indikation zur Euthanasie bei schweren Erkrankungen besteht, wenn deren Behandlung nur mit aufwändigen konservativen oder chirurgischen Therapien mit ungewissem Ausgang verbunden sind.

Bei Krankheiten, die lediglich eine sportliche Nutzung nicht zulassen, jedoch eine beschwerdearme artgerechte Haltung ermöglichen, liegt keine Indikation zu Euthanasie vor.

Das Konfliktpotenzial beschränkt sich in der Regel auf die Fälle, in denen kostenintensive oder langwierige Behandlungen und Operationen eine Option sind.

Bei diesen bleibt auch bei sich ständig weiterentwickelnden Behandlungs- und Operationsmethoden im individuellen Fall ein ungewisser Ausgang bestehen.

Eine Auflösung des Konfliktes kann durch eine stichhaltige Diagnose mit der dazugehörigen Prognose oft transparent erarbeitet werden. Eine Offenlegung aller möglichen prognostischen Szenarien lässt Kompromiss und Konsens, als Konfliktlösung, in den allermeisten Fällen zu. Dabei ist die Prognose regelmäßig dem Istzustand anzupassen.

Der ethische Konflikt (Wertekonflikt) vermischt sich oft mit Interessenkonflikten (ökonomischen Konflikten). Im Gegensatz zu letzterem handelt es sich beim ethischen Konflikt um unterschiedliche Anschauungen zu moralischen, kulturellen, religiösen oder ideologischen Überzeugungen (1).

In der Praxis hat sich die Klientel von Pferdehaltern in den letzten 30 Jahren deutlich geändert. Hier ist eine Verschiebung der Pferdehaltung und -nutzung aus dem landwirtschaftlich geprägten Umfeld in die städtische Gesellschaft erfolgt. Deren ethische Normen zeigen sich häufig unterschiedlich. Ein Trend zu einem sehr emotionalisierten Verhältnis zum Pferd zeichnet sich ab. Die Gruppe von Pferdehaltern mit entsprechender Liquidität, z.T. auch durch die Zunahme von Versicherungen, und auf der anderen Seite die Gruppe, die auch bei fehlender Liquidität einen unbedingten Wunsch nach der Ausschöpfung aller medizinischer Möglichkeiten haben, wird zunehmend größer.

Der Zeitgeist der Gesellschaft hat sich bezüglich der Bewertung von Leid und Schmerz in der Hobbytierhaltung geändert. Die Feminisierung des Reitsports und die Tendenz zur Individualisierung der Gesellschaft haben Einflüsse auf Gefühle und Empfindungen und deren Einfluss auf die Bewertung von Leid und Schmerz.

In diesem gesellschaftlichen Kanon ist dem Tierarzt eine zentrale Stellung einzuräumen. Neben den heilmedizinischen Aspekten wird in dieser sich entwickelnden Gesellschaft das Vorhandensein von psychologischen und sozialen Fähigkeiten der Tierärzte unabdingbar. Die Situation erfordert Tierärzte, die in der Lage sind, emotionsgefärbte Unwissenheit und Ängste von Pferdehaltern aufzulösen, um Entscheidungen treffen zu können.

Dabei trägt der Tierarzt auch ein intrapersonelles Konfliktfeld in unterschiedlichster Ausprägung mit sich. Diese Konflikte sind persönlichkeitsabhängig, werteprengt und interessenprengt. Sie machen sich vor allem im Bereich von Grenzsituationen bemerkbar. Dazu zählen Entscheidungen

über die Verfahrensweise bei behandlungsaufwändigen Erkrankungen, die mit fraglicher Prognose behaftet sind.

Die Entwicklung medizinischer Möglichkeiten hat auch den Umgang und die Bewertung mit schweren Erkrankungen beim Pferd verändert.

Aufgrund der gestiegenen Leistungsfähigkeit verschiebt sich die Indikation zur Euthanasie bei schweren Erkrankungsfällen. Die Einflussnahme des Tierarztes auf die Entscheidungsfindung mit dem Besitzer erscheint aus eigener Erfahrung hoch.

Die Entscheidung über eine Behandlung chronischer therapieaufwändiger Erkrankungen sowie von schwerwiegenden orthopädischen Verletzungen (komplizierten Frakturen) als Alternative zur Euthanasie unterliegt immer der Einzelfallbeurteilung mit einer ehrlichen Analyse des Machbaren.

Die Aufklärung des Pferdebesitzers durch den Tierarzt, basierend auf umfangreicher fachlicher Kompetenz, die Klärung der Erwartungshaltung an eine Therapie sowie die regelmäßige Überprüfung des Ist-Zustandes sollten zur Entscheidung über Behandlungen von Erkrankungen im medizinischen Grenzbereich des Patienten Pferd führen.

Dem Ausfüllen dieser zentralen Position des Tierarztes in der Lösung derartiger Konfliktsituationen ist höchste Aufmerksamkeit zu schenken. Die Erlangung einer hohen fachlichen und sozialen Qualifikation mit entsprechender Berufserfahrung und der vorbildwirksamen Tätigkeit der Ausbilder und Führungskräfte in den jeweiligen Praxen, Tierkliniken und Universitäten sind dazu unbedingt notwendig.

Die Verantwortung für die unter menschlicher Obhut lebenden Tiere ist mit einer umfassenden Fürsorgepflicht verbunden.

Literatur

1. Wikipedia: Konflikt <https://de.wikipedia.org/wiki/Konflikt>
2. Schüle E. Operation oder Euthanasie - vom sensiblen Umgang mit dem gestressten Tierbesitzer unter Tierschutzgesichtspunkten. Pferdeheilkunde 2012; 28 (4): 477-482

Kontakt

Andre Kleinpeter, Tierklinik Alt Sammit, Alt Sammit
info@tierklinik-alt-sammit.de

Tierschutzrecht und Euthanasie des Pferdes aus Sicht der Veterinärbehörde

Claudia Canz

Landesdirektion Sachsen (LDS), Dresden

Hintergrund

Nach § 1 Satz 2 Tierschutzgesetz darf niemand einem Tier ohne vernünftigen Grund Schmerzen, Leiden oder Schäden zufügen. Auch der Tod ist ein Schaden (vgl. BVerwG NVwZ 1998, 853, 855: „der mit dem schwersten Schaden verbundene Eingriff“; Lortz/Metzger § 1 Rn. 54; Goetschel Art. 2 Rn. 10; Lorz NuR 1992, 401, 402: „denkmäßig der größte Schaden, der einem Lebewesen zugefügt werden kann“) (1). Bedenken, dass schmerzlose Tötungen unheilbar kranker Tiere bei diesem Schadensbegriff nicht mehr möglich seien, sind völlig unbegründet: sie sind zwar Schadenszufügung, aber durch einen vernünftigen Grund gerechtfertigt (1).

Nach § 17 Nr. 1 Tierschutzgesetz wird mit Freiheitsstrafe bis zu drei Jahren oder mit Geldstrafe bestraft, wer ein Wirbeltier ohne vernünftigen Grund tötet. Eine Legaldefinition für den vernünftigen Grund gibt es nicht. Insofern gibt es in Fachliteratur und Veröffentlichungen nur Beschreibungen bzw. Vollzugshinweise, woraus Rückschlüsse für das Vorliegen eines vernünftigen Grundes gezogen werden können. Beispielsweise kann ein vernünftiger Grund für eine Euthanasie im Einzelfall dann vorliegen, wenn ein krankes Tier nur durch eine langwierige und schmerzhaft Behandlung überleben würde. Bei erheblichen, nicht zu lindernden Schmerzen oder Leiden kann sogar eine Verpflichtung zur Tötung eines Tieres bestehen, da nach allgemeiner Anschauung der Schutz des Wohlbefindens eines Tieres über den Schutz seines Lebens gestellt wird, Bundesratsdrucksache 181/99 Tierschutzbericht 1999 (2). Im selben Tierschutzbericht von 1999 wird darauf eingegangen, dass die vielfältigen Umstände, die Anlass zur Tötung eines Tieres sein können, einer allgemeinen Einteilung in rechtswidrige oder rechtmäßige Fälle nicht zugänglich sind. Nur das Abstellen auf den Einzelfall, unter Einbeziehung aller für das Tier und seinen Halter wichtigen Faktoren, kann zu einer der Situation des in der Obhut des Menschen lebenden Tieres angemessenen Entscheidung führen.

Auch innerhalb der Europäischen Union thematisieren die Tierärztinnen und Tierärzte die Euthanasie von Pferden. Die Mitglieder der Federation of Veterinarians of Europe stellen im Juni 2019 fest, dass in einigen Mitgliedstaaten die Euthanasie von Pferden, welche aus der Nahrungskette ausgeschlossen wurden, nur erfolgen darf, wenn ein offiziell anerkannter „triftiger Grund“ vorliegt, sie einzuschläfern (3). Dies ist in Deutschland der Fall auf Grund § 17 Nr. 1 des Tierschutzgesetzes. Infolgedessen können diese Pferde trotz Krankheit über einen langen Zeitraum leiden (z. B. bei chronischen Erkrankungen wie z.B. Lahmheit, Hautkrankheit, Atemwegserkrankung), weil es nicht genügend „vernünftige Gründe“ gibt, um sie zu euthanasieren (3). Zudem gibt es auch Fälle, wo sich der Tierhalter die Euthanasie nicht leisten kann, oder er will sich keine Behandlung leisten (3). Auf der anderen Seite gibt es die Fälle, wo die Entscheidung des Tierhalters für eine Euthanasie schwerfällt, obgleich eine Prognose auf Heilung infausta ist.

Der Vortrag soll Hilfestellung geben, wie sich Tierärztinnen und Tierärzte in dieser Konfliktsituation zwischen Tierschutzgesetz und Anspruch von Tierhaltern bzw. von Eigentümern, wenn nicht identisch mit dem Tierhalter, verhalten können und müssen.

Was können Rechtfertigungsgründe für die Euthanasie von Pferden sein und wie kann das geprüft werden?

Es gilt der allgemeine Grundsatz zum Verbot des Tötens, jedoch existieren in verschiedenen Sachgebieten Spezialgesetze, die das Töten von Tieren zulassen oder anordnen, wie z.B. Tiergesundheits-, Naturschutz-, Jagd-, Fischerei-, Biozid-, sowie Polizei- und Ordnungsrecht. Gleichwohl ist es auch nach § 4 Tierschutzgesetz sowie nach national geltender Tierschutz-Schlachtverordnung in Verbindung mit der Verordnung (EG) Nr. 1099/2009 über den Schutz von Tieren zum Zeitpunkt der Tötung zulässig, Tiere zu töten, allerdings grundsätzlich nur unter wirksamer Schmerzausschaltung. Aber selbst dort, wo ein Erlaubnistatbestand vorhanden ist, muss man sich Gedanken darübermachen, ob für die Tötung ein vernünftiger Grund vorliegt. Alle diese Gesetze werden durch das höherrangige Grundgesetz und damit auch durch die Staatszielbestimmung Tierschutz, Art. 20a Grundgesetz, überlagert (4). Zwar enthält das Staatsziel keinen generellen Vorrang für den Tierschutz, es erfordert aber, dass Konflikte, die zwischen den tierlichen Wohlbefindens- und Unversehrtheitsinteressen und den menschlichen Nutzungs- und Sicherheitsinteressen auftreten können, nach dem Grundsatz der praktischen Konkordanz bzw. nach Maßgabe die Konkordanz im einzelnen vermittelnden Grundsatzes der Verhältnismäßigkeit aufgelöst werden (4). Deshalb bedarf es auch dort, wo das Spezialgesetz es nicht ausdrücklich vorsieht, einer Abwägung und eines gerechten Ausgleichs zwischen den Belangen des Tierschutzes und den gegenläufigen menschlichen Interessen (4). Tötungen bleiben damit zwar weiterhin zulässig, jedoch nur dort, wo sie um höherrangiger Interessen willen geeignet, erforderlich und verhältnismäßig sind; tierschonendere Maßnahmen haben grundsätzlich Vorrang; bei keiner Tiertötung darf das Verfassungsgut des Tierschutzes mehr zurückgedrängt werden, als es zur Realisierung vorrangiger Güter zwingend erscheint (4).

Daraus ergibt sich, dass in jedem Einzelfall eine Prüfung erfolgen muss, die eine Güterabwägung zum Inhalt haben muss. Die Güterabwägung muss durch die einzelne praktische Tierärztin bzw. den Tierarzt für den Einzelfall stattfinden, weil in der tierärztlichen Praxis auch alle Kenntnisse für den Sachverhalt vorliegen. Auf Grund der Erfahrungen mit den Ergebnissen von Gerichtsbeschlüssen bzw. Gerichtsurteilen muss damit gerechnet werden, dass die Richterinnen und Richter auf den Einzelfall eingehen und substantiiert dargelegt sein muss, warum eine Euthanasie durchgeführt wurde. Nach § 17 Nr. 1 und Nr. 2 lit. b Tierschutzgesetz wird mit einer Freiheitsstrafe bis zu drei Jahren bestraft, wer ein Wirbeltier ohne vernünftigen Grund tötet oder einem Wirbeltier länger anhaltende oder sich wiederholende erhebliche Schmerzen oder Leiden zufügt. Auch die schmerzlose Tötung, mit oder ohne die erforderliche Sachkunde, erfüllt den Tatbestand. Die Öffentlichkeit ist zunehmend sensibilisiert im Hinblick auf Tierschutz. Die Strafanzeigen gegenüber Tierärztinnen und Tierärzte nehmen immer mehr zu. Sollten Anzeigen bei der Staatsanwaltschaft oder Beschwerden bei der Veterinärbehörde oder der Tierärztekammer gegen praktische Tierärztinnen oder Tierärzte vorliegen, ist es essentiell, dass die Tierärztinnen oder Tierärzte nachvollziehbar glaubhaft machen können, dass alle Maßnahmen ausgeschöpft wurden, um eine Euthanasie nicht durchzuführen. Dazu ist es notwendig, dass dokumentiert wurde, welche Schmerzen, Leiden und Schäden bei der benannten Erkrankung vorliegen. Die Schmerzen, Leiden und Schäden müssen gleichfalls konkret benannt werden. Weiterhin muss dokumentiert werden, ob eine Therapie möglich und aussichtsreich ist, welche Kosten nach einer etwaigen Operation anfallen, welchen Belastungen das Tier ausgesetzt ist und welche Lebensqualität und Lebenserwartung es haben wird. Die Entscheidung für eine Euthanasie muss substantiiert enthalten, dass das künftige Leben dem Tier nicht zuträglich (natürlich aus der Perspektive des Tieres) ist.

Beispiele für das Nichtvorliegen des vernünftigen Grundes mit Einbeziehung der Kostenfrage sind im Kommentar zum Tierschutzgesetz für die Tötung von Heimtieren, welche nach obiger Ausführung auch Pferde sein können, vorhanden. Für die Tötung eines gesunden Heimtiers gibt es

keinen vernünftigen Grund (5). Für die Tötung eines kranken Heimtieres gilt, dass es nicht getötet werden darf, solange eine Therapie möglich und aussichtsreich ist (5). Aber auch bei einer unheilbaren Krankheit oder Behinderung ist eine Tötung so lange nicht gerechtfertigt, wie das Tier trotz der Behinderung ohne Schmerzen und Leiden oder mit nur geringen Schmerzen oder Leiden weitgehend artgemäß leben kann (5). Bei hohen Heilbehandlungskosten gilt zunächst, dass der Halter gemäß § 2 Nr. 1 Tierschutzgesetz zu einer art- und bedürfnisangemessenen Pflege verpflichtet ist, und dass dies die Veranlassung der medizinisch indizierten Heilbehandlungsmaßnahmen einschließt (5). Trotzdem stellt sich die Frage, ob dafür eine Zumutbarkeitsgrenze anzuerkennen ist (5). Aus § 251 Abs. 2 S. 2 BGB kann man den allgemeinen Rechtsgedanken entnehmen, dass die Zumutbarkeit jedenfalls nicht am Marktwert des Tieres ausgerichtet werden darf (5).

Zur Erläuterung: Nach § 251 Abs. 2 S. 2 BGB sind die aus der Heilbehandlung eines verletzten Tieres entstandenen Aufwendungen nicht bereits dann unverhältnismäßig, wenn sie dessen Wert erheblich übersteigen.

Im Übrigen ist davon auszugehen, dass Behandlungskosten dem Tierhalter insoweit zumutbar sind, als ein verständiger, mit den Werten des Tierschutzgesetzes verbundener Tierhalter in der Lage des Betroffenen bereit wäre, die Aufwendungen zu tätigen (vgl. Binder Nur 2007, 806, 811; dies. DVG 2007 S.73, unter Hinweis auf Bezirksgericht Melke Ur. V. 1.2.2006, GZ 5C 2336/04: Danach würde ein verständiger Hundehalter nach der erfolglosen Behandlung seines Tieres durch den Haustierarzt noch einen zweiten Tierarzt aufsuchen bzw. den Hund in eine spezialisierte Tierklinik bringen, um ihm die bestmögliche Behandlung zukommen zu lassen; auch der Aufwand für die Beschaffung von Blut- und Plasmaspenden zählt noch zu den zumutbaren Behandlungskosten. In der Entscheidung wird auch festgestellt, dass eine Tötung jedenfalls so lange nicht geboten ist, wie nach der Erstoperation eine Überlebenschance von 50:50 besteht) (5). Überschreitet der Aufwand, der für eine erfolgversprechende Heilbehandlung notwendig ist, nur deshalb die Zumutbarkeitsschwelle, weil der Tierhalter mit der Zuziehung des Tierarztes zu lange gewartet hat (oder wegen anderer in seine Verantwortung fallender Umstände), dann begründet die von ihm selbst verschuldete bzw. zu verantwortende Aufwandserhöhung in der Regel keine Unzumutbarkeit (5).

Die Kommentare sind eindeutig. Es wird deutlich, dass sehr hohe Hürden für die Prüfung des vernünftigen Grundes und die anschließende Entscheidung einer Euthanasie gesetzt werden. Es wird verlangt, dass stets im Einzelfall Entscheidungen zu treffen sind. Die Heilbehandlungskosten dürfen den Tierhalter jedoch nicht existentiell bedrohen. Im Folgenden muss dann auch bedacht werden, ob auf Grund der hohen Heilbehandlungskosten Vermittlungsversuche des Tieres scheitern würden, in diesen Fällen können auch vom Tierhalter Tierschutzvereine mit einbezogen werden. Nachvollziehbare Aussagen, ab welcher Summe die Heilbehandlungskosten zu hoch sein könnten, können nur für den Einzelfall getroffen werden. Im Übrigen ist eine fehlende Bereitschaft des Tierhalters zur Abgabe des Tieres kein vernünftiger Grund für die Euthanasie.

Die Tierärztin bzw. der Tierarzt muss zusammen mit dem Tierhalter bzw. Eigentümer über eine Euthanasie entscheiden (6). Sollte kein Einvernehmen vorliegen, muss die praktische Tierärztin bzw. der Tierarzt um amtstierärztliche Unterstützung bitten. Gemäß der Stellungnahme der Tierärztlichen Vereinigung für Tierschutz (TVT) zur Tötung überzähliger Tiere im Zoo soll die Entscheidung ein Tier zu töten in einer Tierschutzkommission gefällt werden, der mindestens der Amtstierarzt, der betreuende Tierarzt, der das betreffende Tier pflegende Tierpfleger und die Zooleitung angehören sollten (7). Dies ist in einer Tierarztpraxis nicht praktikabel. In Gemeinschaftspraxen sollte jedoch mindestens eine weitere Tierärztin oder ein weiterer Tierarzt bei der Entscheidung bei zweifelhaften und schwierigen Sachverhalten hinzugezogen werden und die Entscheidung beraten werden. Dies muss auch dokumentiert werden.

In diesem Konfliktkreis der Prüfung eines vernünftigen Grundes sehen sich übrigens auch die Veterinärbehörden, denn nach Ziffer 15.1 der Allgemeinen Verwaltungsvorschrift zur Durchführung des Tierschutzgesetzes vom 9. Februar 2000, zu § 16a (Befugniskatalog – Maßnahmen nach § 16a Satz 2 Nr. 2), kann die zuständige Behörde unter Beteiligung des beamteten Tierarztes die Tötung eines Tieres, das dem Halter nach dem Gutachten des beamteten Tierarztes fortgenommen wurde, dann als letzte in Betracht kommende Maßnahme veranlassen, wenn bei schlachtbaren Tieren die Zweckbestimmung des Tieres zur Lebensmittelgewinnung rechtlich untersagt ist (z.B. wegen Anwendung verbotener Substanzen bei dem Tier) oder trotz nachweisbarer, geeigneter Vermittlungsversuche (z.B. Medienhinweise) das fortgenommene Tier nicht verkauft, verschenkt oder abgegeben werden kann. Nach Ziffer 15.2 o.g. Verwaltungsvorschrift sollen in die Vermittlungsversuche andere Fachbehörden und Tierschutzorganisationen einbezogen werden. Auch in diesen Fällen müssen die Veterinärbehörden substantiierte Einzelfallentscheidungen dokumentieren und treffen.

Insofern muss auch von der Tierärztin bzw. Tierarzt dokumentiert werden, dass alle Vermittlungsversuche durch den Tierhalter gescheitert sind.

Einordnung nach Lebensmittel- und Tierischem Nebenproduktrecht

Schlachten ist ein vernünftiger Grund für das Töten eines Pferdes. Allerdings lassen viele Pferdebesitzer ihr Tier als nicht schlachtbar im Equidenpass eintragen, weil sie es aus durchaus nachvollziehbaren Gründen nicht wünschen, dass ihr Pferd in einem Schlachthof getötet wird. Nach dem Positionspapier der Federation of Veterinarians of Europe mit Stand vom 7. Juni 2019 gibt es ca. 7 Millionen Pferde in der EU, von denen ca. 50 % nicht in die Lebensmittelkette gelangen dürfen auf Grund der Eintragungen in ihrem Equidenpass (3). Equiden gelten nach Ziffer 12.2.1.5.1 der Allgemeinen Verwaltungsvorschrift zur Durchführung des Tierschutzgesetzes und auch nach der Verordnung (EG) Nr. 1069/2009 mit Hygienevorschriften für nicht für den menschlichen Verzehr bestimmte tierische Nebenprodukte und zur Aufhebung der Verordnung (EG) Nr. 1774/2002 (Verordnung über tierische Nebenprodukte) als landwirtschaftliche Nutztiere. Daraus könnte der Schluss gezogen werden, dass es sich bei gesunden Equiden stets um lebensmittelliefernde Tiere handelt. Equiden gelten jedoch in den Gesetzestexten weder einheitlich als lebensmittelliefernd (wie z.B. Rind und Schwein) noch als nicht lebensmittelliefernd (wie z.B. Hund oder Katze). So gelten Equiden nach der Durchführungsverordnung (EU) 2015/262 zur Festlegung von Vorschriften gemäß den Richtlinien 90/427/EWG und 2009/156/EG des Rates in Bezug auf die Methoden zur Identifizierung von Equiden (Equidenpass-Verordnung) grundsätzlich als zur „Schlachtung für den menschlichen Verzehr bestimmt“, es sei denn, es wird unwiderruflich im Abschnitt II Teil II des Equidenpasses anders festgelegt. Der Status eines Schlachtequiden kann jederzeit in einen Nicht-Schlachtequiden umgeändert werden. Ein Nicht-Schlachtequide bleibt allerdings lebenslang ein solcher. Es ist daher folglich wichtig, dass der Tierhalter bereits vor der Entscheidung zu einer Eintragung im Equidenpass aufgeklärt wird von den praktischen Tierärztinnen bzw. Tierärzten im Hinblick auf die Konsequenzen, denn der vernünftige Grund für die Tötung durch Schlachtung fällt dann weg. Sollte gar kein Equidenpass vorliegen (Sonderregelung für Fohlen < 12 Monate), ist eine Schlachtung gleichfalls nicht möglich, auch nicht nach dem Ausstellen eines Ersatzpasses.

Nach dem Gutachten über Mindestanforderungen an die Haltung von Säugetieren des BMEL vom 07. Mai 2014 kann die Tötung von Tieren zu Futterungszwecken bei der Abwägung und Planung einen vernünftigen Grund im Sinne des Tierschutzgesetzes darstellen (8). Der Vollständigkeit halber sei deshalb darauf hingewiesen, dass auch eine Schlachtung zu Futterzwecken von Nicht-Schlachtequiden nicht möglich ist, da es sich nicht um Material der Kategorie 3 handelt. Material der Kategorie 3 umfasst tierische Nebenprodukte, von denen keine Gefahr für die Gesundheit von Mensch und Tier ausgeht, u. a. Schlachtkörperteile, die nach dem

Gemeinschaftsrecht genussuntauglich sind, die jedoch aus kommerziellen Gründen nicht für den menschlichen Verzehr bestimmt sind. Weiterhin umfasst Material der Kategorie 3 Schlachtkörper oder ganze Körper und Teile von Tieren, die gemäß den Gemeinschaftsvorschriften als genussuntauglich zurückgewiesen wurden, jedoch keine Anzeichen von auf Mensch oder Tier übertragbaren Krankheiten aufwiesen.

Ein Tierhalter, der ein lebensmittellieferndes Pferd der Schlachtung zuführen will, weil er beispielsweise das Pferd nicht mehr finanzieren kann, könnte insofern nach Abwarten der Wartezeit das Pferd zur Schlachtung abgeben, wenn es im Equidenpass nicht zur Schlachtung gesperrt ist. Dabei muss beachtet werden, dass vor einer Schlachtung Tierarzneimittelwartezeiten eingehalten werden müssen. Wurde das Pferd zuvor z.B. wegen einer nicht unerheblichen Lahmheit behandelt, muss das Pferd je nach verabreichten Tierarzneimitteln Tage oder sogar Wochen bzw. Monate ohne diese auskommen. Dies wäre dann tierschutzrelevant, weil das Pferd dadurch erhebliche Schmerzen haben kann und weil sich die Leiden des Pferdes verlängern, bis es nach Ablauf der Wartezeit der Schlachtung zugeführt werden könnte. In diesem Fall muss gleichsam eine Güterabwägung mit Dokumentation der Schmerzen und das zu erwartende Leiden erfolgen, bevor die Tierärztin bzw. der Tierarzt die Entscheidung treffen kann, das Pferd von seinen Leiden zu erlösen und zu euthanasieren. In der Dokumentation muss für Dritte nachvollziehbar sein, dass die Schmerzen für das Tier nicht aushaltbar sind und ein Schlachten des Tieres nicht möglich ist, weil das Lebensmittelrecht dagegensteht.

Diskussion und Zusammenfassung

Nach Recherche im Internet kostet eine Operations-Versicherung für Pferde je nach Leistungsumfang ab 10,90 Euro pro Monat bis zu 20.- Euro pro Monat. Dagegen kostet eine Krankenversicherung für Pferde inklusive Operationen ab ca. 111.- Euro pro Monat, je nach Alter des Pferdes und Vertragsabschlussdauer bis hin zu 215.- Euro pro Monat. Die beiden zuletzt genannten Versicherungen schließen jedoch aus Kostengründen nicht viele Tierhalter ab. Über die Versicherungsmöglichkeiten sollten die praktischen Tierärztinnen und Tierärzte die Pferdehalter aufklären. Auch die Bundestierärztekammer e.V. hat am 8. August 2019 ausdrücklich Besitzern von Klein-/Heimtieren empfohlen, eine Tierkrankenversicherung abzuschließen.

Unterstützend für die Tierärztinnen bzw. Tierärzte, auch für etwaige gerichtliche Verfahren, wären Diagnoseleitlinien, die aufzeigen, ab wann Schmerzen für Pferde nicht mehr zumutbar sind und wie lange Schmerzbehandlungen auf Grund der Nebenwirkungen der verabreichten Tierarzneimittel durchgeführt werden können. Die Leitlinien sollten von Tierärztinnen bzw. Tierärzten mit entsprechender Expertise, z.B. von der Bundestierärztekammer oder einer Landestierärztekammer, erarbeitet werden. Auch dann müsste jedoch mit Unterstützung der Leitlinien auf den Einzelfall abgestellt werden.

Literatur

Auf die Nennung von Rechtsquellen wird verzichtet.

1. Hirt, Maisack, Moritz, Tierschutzgesetz, Kommentar, 3. Auflage, Rn. 28 § 1 Tierschutzgesetz
2. Bundesrat Drucksache 181/99 Unterrichtung durch die Bundesregierung, Tierschutzbericht 1999 „Bericht über den Stand der Entwicklung des Tierschutzes“ <http://dipbt.bundestag.de/dip21/brd/1999/D181+99.pdf>
3. FVE/FEEVA position on End of Life for Horses 'Every horse deserves a quality life and death', adopted unanimously by the FVE GA on 7 June 2019. https://www.fve.org/publication_category/position-papers/
4. Hirt, Maisack, Moritz, Tierschutzgesetz, Kommentar, 3. Auflage, Rn. 5 § 17 Tierschutzgesetz
5. Hirt, Maisack, Moritz, Tierschutzgesetz, Kommentar, 3. Auflage, Rn. 75 § 17 Tierschutzgesetz
6. Entscheidungshilfe zur Euthanasie von Klein- und Heimtieren, Landestierärztekammer Hessen und Tierärztekammer Berlin

7. Stellungnahme der TVT zur Tötung überzähliger Tiere im Zoo, erarbeitet vom Arbeitskreis 7 (Zirkus und Zoo) April 2009
8. Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft, Mindestanforderungen an die Haltung von Säugetieren vom 7. Mai 2014 https://www.bmel.de/SharedDocs/Downloads/Tier/Tierschutz/GutachtenLeitlinien/HaltungSaeugetiere.pdf?__blob=publicationFile

Kontakt

Dr. Claudia Canz, Landesdirektion Sachsen, Dresden
claudia.canz@lds.sachsen.de

Aktuelle Rechtslage zu Tierschutzrecht und Euthanasie von Tieren

Kai Bemann

Verden

Zu diesem Vortrag wurde kein Manuskript eingereicht.

Die erforderliche Sorgfalt bei Verdacht auf Knochenverletzung

Doreen Scharner

Klinik für Pferde, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig

Eine Fraktur stellt eine Unterbrechung der Kontinuität des Knochens unter Bildung zweier oder mehrerer Bruchstücke dar. Dabei kann es zu Verschiebungen bzw. Verlagerungen von Knochenteilen kommen. Die häufigste Ursache für das Entstehen von Frakturen sind direkte und indirekte traumatische Einflüsse auf das Knochengewebe. Zu den direkten Traumata gehören die beim Pferd häufig vorkommenden Trittverletzungen. In einer Dissertation zur epidemiologischen Untersuchung von Frakturpatienten wurde die Trittverletzung als häufigste Ursache für eine Fraktur ermittelt (1). Sogenannte Ermüdungsfrakturen treten bei hohen Belastungen bei Pferden im Rennsport durch wiederholte Mikrotraumata auf. Pathologische Frakturen, hervorgerufen durch schwere Knochenveränderungen, kommen beim Pferd hingegen selten vor. Frakturen werden hinsichtlich der Vollständigkeit in inkomplett (Haarriss, Fissur) und komplett, hinsichtlich der Stabilität in nicht verlagert und verlagert sowie hinsichtlich der Hautintegrität in geschlossen und offen klassifiziert.

Das klinische Bild einer Fraktur ist gekennzeichnet durch eine plötzlich auftretende Funktionsstörung, die sich in einer hochgradigen Lahmheit äußert. Weitere Anzeichen für eine Fraktur sind Schwellung im zugehörigen Weichteilbereich, Schmerzhaftigkeit bei Palpation, Krepitation und abnorme Beweglichkeit. Das wichtigste bildgebende Verfahren zur Abklärung des Frakturverdachtes ist die Untersuchung mittels Röntgen. Optimal ist die Darstellung der verdächtigen Region in vier Ebenen. Bei unauffälligem Palpationsbefund sollten zunächst die Knochen geröntgt werden, an denen häufig Frakturen auftreten. Hierzu zählen Fesselbein, Hufbein, Radius und Tibia.

Eine diagnostische Herausforderung können inkomplette Frakturen (Haarriss, Fissur) darstellen, bei denen klinische Befunde oft fehlen und die Lahmheit nicht hochgradig sein muss. Eine Schmerzhaftigkeit bei der Palpation auf den medialen Bereich von Radius oder Tibia bzw. auf das dorsale Fesselbein kann hinweisend auf eine Fissur sein. Die Schwierigkeit in der Diagnostik besteht auch in der Tatsache, dass sich nur bei orthograder Aufnahme zur Fissur, diese darstellen lassen. Insofern sollten die vier Aufnahmen durch weitere Schrägaufnahmen, mit nur leicht abgeänderten Aufnahmerichtungen, ergänzt werden. Da sich der Frakturspalt im Verlaufe der ersten zwei Wochen erweitert, verbessern sich die Bedingungen für die Darstellung der Fissurlinien mit der Zeit (2,3). Der Zeitraum für eine röntgenologische Nachuntersuchung bei unklarem Fissurverdacht wird in der Literatur sehr unterschiedlich angegeben: nach 5 bis 7 Tagen (4), nach 7 bis 10 Tagen (5), nach 10 Tagen (3) und nach 14 Tagen (2). Alternativ kann bei negativem Röntgenbefund eine szintigraphische Untersuchung in Betracht gezogen werden, welche im Vergleich die sensitivere Untersuchungsmethode darstellt (5). Bis zum Ausschluss einer Fissur sollte das Pferd als Frakturpatient behandelt werden.

Besonders achtsam sollte mit unbeobachteten Weichteilverletzungen an Unterarm bzw. Unterschenkel bei Pferden, die in einer Gruppe gehalten werden, umgegangen werden. In diesen Fällen kann als Ursache eine Trittverletzung nicht ausgeschlossen werden. Die Weichteilverletzungen sind meist klein und bei unbeobachtetem Hergang nicht immer eindeutig und sofort zu erkennen. Neben der Weichteilverletzung kann gleichzeitig eine Traumatisierung des betroffenen Knochens auftreten, welche in der Folge die Schwere der Erkrankung maßgeblich

beeinflusst. Vor allem, weil das Trauma nicht zwangsläufig mit einer deutlichen Lahmheit einhergehen muss und kleinere Hautverletzungen bzw. Weichteilschwellungen häufig als wenig dramatisch angesehen werden, kann es zu einer Fehleinschätzung der vorliegenden Situation sowohl durch den Besitzer als auch den behandelnden Tierarzt kommen. Infolge des Unterlassens notwendiger Maßnahmen kann sich aus einer Fissur eine komplette Fraktur entwickeln, was nicht selten zu einem prekären Ausgang führt. Zur Vermeidung derartiger Fehleinschätzungen sollte auf eine röntgenologische Untersuchung nicht verzichtet werden (6). Anhand von Fallbeispielen wird im Vortrag auf die Problematik der Fissurdiagnostik besonders eingegangen.

Literatur

1. Hug S. Epidemiologische Untersuchung der Frakturpatienten der Pferdeklinik; Bedeutung der Schlagverletzung als Ursache von Frakturen [Dissertation]. Zürich: Vetsuisse Fakultät; 2009.
2. Huskamp B, Stadtbäumer G, Mengeler U, Nowak M. Diagnostische Probleme bei Fissuren des Pferdes. *Pferdeheilkunde* 1994;10(6):365-376.
3. Derungs SB, Fürst A, Haas C, Geissbühler U, Auer JA. Fissure fractures of the radius and tibia in 23 horses: a retrospective study. *Equine vet. Educ.* 2001;13(6):313-318.
4. Watkins JP. Radius and Ulna. In: Auer JA, Stick JA, Herausgeber. *Equine Surgery*. 4. Aufl., St. Louis: Elsevier Saunders; 2012. S. 1364-1378.
5. Butler JA, Colles CM, Dyson SJ, Kold SE, Poulos PW. The stifle and tibia. In: *Clinical radiology of the horse*. 3. Aufl., Chichester: Wiley-Blackwell; 2008. S. 363-412.
6. Lohr M, Brehm W, Scharner D. Verzögerte Diagnosestellung bei Radius- und Tibiafrakturen – Eine Fallserie unter Berücksichtigung der aktuellen Rechtsprechung. *Pferdeheilkunde* 2019;35(2):105-112.

Kontakt

PD Dr. Doreen Scharner, Klinik für Pferde, Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig
scharner@vetmed.uni-leipzig.de

Beweislastumkehr aus Gerechtigkeitsgründen

Kai Bemann

Verden

Zu diesem Vortrag wurde kein Manuskript eingereicht.

Grundlagen der MRT Diagnostik beim Pferd

Kerstin Gerlach

Klinik für Pferde, Universität Leipzig

Einleitung

Die magnetresonanztomographische Untersuchung (MRT) der distalen Gliedmaßen am stehenden Pferd hat sich in den letzten Jahren enorm etabliert. Weil die Risiko-Nutzen-Abwägung der Stehenduntersuchung aufgrund der nicht notwendigen Narkose etwas günstiger ausfällt, hat sich diese Untersuchungstechnik durchgesetzt. Sie stellt ein wertvolles ergänzendes Hilfsmittel zur klinischen Untersuchung dar. Die zu Grunde liegende Theorie bleibt jedoch schwierig. Ziel dieses Vortrags soll eine einfache Einführung in die Materie mit Darstellung limitierender Faktoren bei der Anwendung dieses bildgebenden Verfahrens sein. Wir möchten einen Überblick für den praktischen Tierarzt geben, um mit den Befundungen und Veränderungen im MRT-Bild besser umgehen zu können.

Wie funktioniert MRT und was sehen wir?

Es handelt sich um eine nicht invasive Methode, welche nicht ionisierend arbeitet.

Die physikalische Grundlage der Magnetresonanztomographie stellen die Eigenschaften der Wasserstoffatome (1 H) dar. Diese sind in fast allen Geweben und Organen vorhanden. Wasserstoffatome besitzen als Kern ein positiv geladenes Proton, um das ein negativ geladenes Elektron kreist, das gesamte Atom ist demnach neutral. Die Wasserstoffprotonen besitzen die quantenmechanische Grundeigenschaft eines Elementarteilchens, den sogenannten Spin. Dieser Spin erzeugt ein Magnetfeld. Dies verstärkt sich, wenn alle Spins in eine Richtung drehen, oder löscht sich aus, wenn sie sich gegensätzlich drehen. Hochfrequenzimpulse klappen die Richtung der Spins um, die sich dann in unterschiedlichen Zeiten wieder in ihre ursprüngliche Position ausrichten. Die dabei abgegebene elektromagnetische Energie wird als Signal gemessen.

Über die Protonendichte, T1- und T2-Relaxation und die chemische Verschiebung erhält man gewebespezifische Bildkontraste.

Wir orientieren uns somit im MRT-Bild hauptsächlich an Flüssigkeiten, flüssigkeitshaltigen Geweben, Knochen und Bändern, sowie Fett und fetthaltigen Strukturen.

Wie wird ein MRT-Bild befundet?

Ähnlich wie im Röntgenbild wird jede Veränderung nach anatomischen Aspekten bewertet. Kontur und Struktur mit Abweichungen von der Norm werden in den unterschiedlichen Graden, Formen und Größen beschrieben. Zusätzlich wird die Signalintensität eingeschätzt: Hell wird als hyperintens (signalreich), dunkel hypointens (signalarm) und isointens wie ein Vergleichsgewebe (z. B. Muskel) verwendet.

Wozu dienen die unterschiedlichen Sequenzen/ Wichtungen?

Wir müssen die Wichtung jedes Bildes kennen, um die Darstellung der Gewebe als pathologisch oder normal einschätzen zu können. Abb. 1 gibt einen Überblick über die beiden Hauptsequenzen. In allen Wichtungen erscheint der kortikale Knochen vollständig hypointens, der etwas fetthaltige spongiöse Knochen etwas signalreicher. Fett erscheint am signalreichsten in den T1-gewichteten (w) Sequenzen, in den T2w Sequenzen ist er etwas signalärmer. Fett ist ein Gewebe mit hoher Stoffdichte, aufgrund der kürzeren Wegstrecken zwischen den Molekülen geben die angeregten

Protonen ihre Energie viel schneller ab als in Geweben mit geringerer Stoffdichte (Flüssigkeiten). Deshalb erscheint fetthaltiges Gewebe in den T1w Aufnahmen hell und Wasser dunkel.

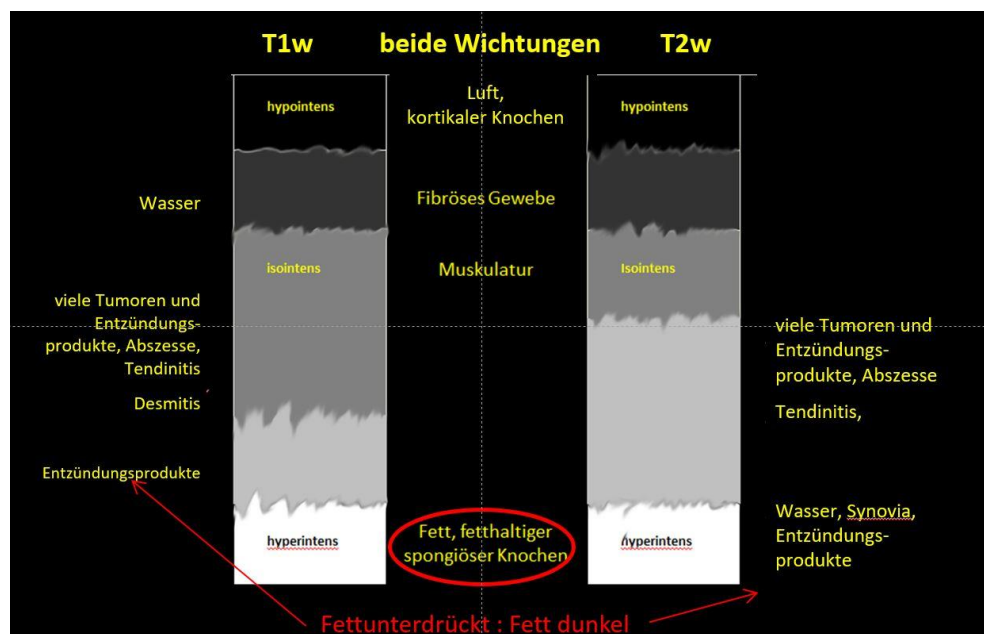


Abbildung 1: Vergleichende Darstellung verschiedener Gewebearten im MRT

Das wichtigste Signal stellt jedoch das hyperintense Flüssigkeitssignal aufgrund der großen Protonendichte in den T2w Sequenzen dar. Diese und die fettunterdrückten (STIR) Sequenzen werden häufig als Suchsequenzen verwendet, um Ödeme nachzuweisen.

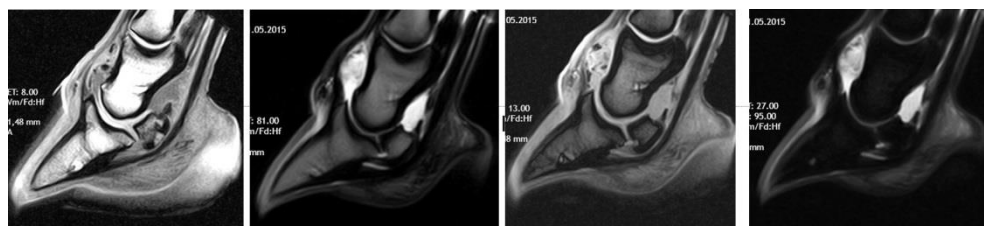


Abbildung 2: Sagittalschnitte des Hufes im Niederfeld-MRT mit der Hufspule.

T1w Spinecho oder Gradientenecho	T2* Gradientenecho	T2w Fastspinecho	STIR Fettunterdrückt
TR/TE kurz TR: 300-800 ms TE: <30 ms		TR/TE lang TR: >2 sec TE: 60-120 ms	
Gewebe mit langer T1-Zeit dunkel Gewebe mit kurzer T1-Zeit hell		Gewebe mit langer T2-Zeit hell Gewebe mit kurzer T2-Zeit dunkel	

In Abb. 2 ist gut zu erkennen, dass in T2w Sequenzen das Hufgelenk sehr signalreich vermehrt gefüllt ist (Synovia), in der T2*w Sequenz jedoch deutlich weniger signalreich erscheint. Die T2*w Sequenzen werden stehend sehr oft angewendet, da sie schneller durchzuführen sind und weniger stör anfällig für Feldinhomogenitäten und Bewegungsartefakte sind. Optisch nähern sie sich jedoch den T1w Sequenzen an. Auch in T1w Sequenzen erscheint die Synovia signalärmer; in dieser Sequenz kann der Knorpel einigermaßen beurteilt werden.

Was erschwert die Diagnostik am stehenden Pferd im Niederfeld-MRT?

1. Häufige minimale Bewegungen

Oft entsteht eine schlechte Qualität der Bilder in den empfindlichen Sequenzen (fettunterdrückt und FSE), vor allem im Bereich des Fesselgelenks und weiter proximal.

2. Freie Wahl der Schnittebenen

Für jede Untersuchung muss jede Schnittebene mit der Hand eingerichtet werden. Dies ist vorteilhaft, um bestimmte Bereiche optimal darzustellen, dauert aber sehr lange. Jeder Bereich muss außerdem in möglichst 3 Ebenen abgebildet werden: sagittal, transversal und frontal (dorsal) außerdem muss jede dieser Ebenen in verschiedenen Sequenzen untersucht werden. Diese dauern zwischen 3 und 6 min, daraus resultieren ca. 10-15 Serien mit ca. 30 Bildern. Für die spätere Rekonstruktion, wie dies mit CT-Bildern möglich ist, besitzen die Bilder nicht die nötige Auflösung.

3. Technisch bis zu 5 mm Schichtdicke

Damit werden die Abstände zwischen den einzelnen Bildern relativ groß und es können winzige Befunde übersehen werden. Daraus können weitere erschwerende Probleme resultieren.

4. Wahl der Sequenz

Optimal wäre jede Ebene in sehr vielen verschiedenen Wichtungen abzubilden, um den größten Informationsgewinn zu erzielen. Das ist zeitlich aber nicht realisierbar, so dass auf ausgewählte Wichtungen zurückgegriffen werden muss. Es müssen Kompromisse eingegangen werden.

5. Artefakte

a) Partialvolumenartefakt

Bilder aus dem Niederfeld-MRT weisen ein geringeres Signal-Rausch-Verhältnis auf, wodurch eine geringere Auflösung hervorgerufen wird. Werden die Voxel größer, treten an Grenzflächen häufig in einem Voxel mehrere Signalintensitäten verschiedener Gewebe auf. Der Computer mittelt diese dann und bildet diesen Bereich isointens ab, statt zwischen einem hyper- und einem hypointensen Voxel zu unterscheiden. Besonders im Gelenkknorpel führt dies zu Fehlbeurteilungen.

b) Magic angle Artefakt der Sehnen und Bänder

Sehnen und Bänder erscheinen einheitlich hypointens in allen Wichtungen. Werden sie allerdings in einem schrägen Winkel untersucht, kann dies zu Signalerhöhungen führen. Diese Artefakte sind bekannt und werden erkannt, solange sie an den üblichen Stellen (z. B. Kollateralbänder des Hufgelenkes) erscheinen.

c) Suszeptibilitätsartefakte

Gewebe oder Fremdmaterial, welches magnetisiert werden kann, ist für dieses Artefakt verantwortlich. Metallisches Material in der Hufkapsel ist besonders geeignet und kann zu großflächigen Signalausfällen oder Bildverzerrungen führen. Auch Blutabbauprodukte können dies hervorrufen. GRE Sequenzen sind besonders empfindlich, was diagnostisch genutzt werden kann.

d) Chemical Shift Artefakt

Protonen mit verschiedenen Drehfrequenzen werden an anderen Stellen abgebildet, als sie sich befinden. Dies betrifft vor allem Fett und Wasser an deren Grenzflächen in GRE Sequenzen. Dabei erscheint ein signalarmer Streifen sowie auf der Gegenseite ein signalreicher Streifen durch eine Verschiebung des Fett-Wassersignals. Dies trifft häufig im Bereich des Strahlbeins distal in den T2*w Sequenzen auf.

Wie erscheinen pathologische Befunde?

Die entsprechende Struktur verändert sich in Form und Größe und weist strukturelle Veränderungen auf. Dies wird für jede Wichtung mit den Signalintensitäten beschrieben. Die räumliche Zuordnung muss über die verschiedenen Schnitte erfolgen. Dies ist schwierig und dauert relativ lange. Je kleiner und kürzer eine Struktur, desto schwieriger ist sie zu befunden. Weiterhin muss eine Wichtung der Veränderung erfolgen, da auch Abweichungen vorkommen, die nicht pathologisch sind und auch bei lahmfreien Pferden auftreten können (1). Deshalb ist die Bewertung einer MRT-Untersuchung IMMER mit einer klinischen Untersuchung gekoppelt.

Knochenveränderungen werden bestenfalls mit einer fettunterdrückten Sequenz ausreichender Qualität lokalisiert. Die Bezeichnungen reichen von Knochenödem über ödemähnliche Veränderungen bis zu bone bruise. Gemeint ist damit ein erhöhtes Signal im Knochen, welches nicht immer pathologisch ist. Vor allem im Strahlbein ist dies bekannt. Kleine fokale Bereiche erhöhter Signalintensitäten stellen zystoide Defekte dar. Oft können auch Frakturlinien im proximalen Fesselbein festgestellt werden. Akute Frakturlinien zeichnen sich durch ein lineares Knochenmarködem sowie Signalerhöhung in T2w Sequenzen und Signalreduktion in den T1w Sequenzen aus.

Sehnenläsionen in der Hornkapsel treten bei akuten Verletzungen in den T1w und T2w Sequenzen mit erhöhter Signalintensität auf. Im Zuge der Heilung weisen sie in T1w und Protonengewichteten Sequenzen eine erhöhte Signalintensität auf, die über einen längeren Zeitraum bestehen bleibt (2). In den T2w und fettunterdrückten Sequenzen kommt es während des Heilungsprozesses wiederum zu einer Signalabnahme. Die Unterscheidung von chronischen Prozessen, welche mit einer Narbenbildung einhergehen, ist damit sehr schwierig (3, 4). Dies gilt auch für eine Altersbestimmung.

Zusammenfassung Das erhaltene MRT-Bild wird von technischen Parametern am Gerät, der gewählten Pulssequenz und den Gewebeparametern beeinflusst. Das sind die Protonendichte sowie die T1- und T2-Relaxationszeiten. Die Zusammenhänge sind extrem komplex. Für die Diagnostik der distalen Gliedmaße am Pferd stehen deshalb fertige Menüs zur Verfügung. Die MRT-Diagnostik wird weiterhin steigend eingesetzt werden und sich weiterentwickeln. Sie stellt ein wertvolles Zusatzverfahren dar, welches allerdings auch realistisch eingeschätzt werden muss. Artefakte und die Einbeziehung umliegender Strukturen erschweren die Auswertung zum Teil erheblich. Beachtet man dies ausreichend und wägt Risiko und Nutzen ab, stellt die stehende Untersuchung der distalen Pferdegliedmaße ein wichtiges Hilfsmittel in der Diagnostik dar.

Literatur

1. Stöckl T, Schulze T, Brehm W, Gerlach K: Vergleichende bilaterale magnetresonanztomographische Untersuchungen der Hufregion im Niederfeld-MRT–Teil 2: Häufigkeit der Befunde und deren Verteilung. Pferdeheilkunde 2013;29(3):303-311.
2. Kasashima, Y., Kuwano A, Katayama Y, Taura Y, Yoshihara T. Magnetic Resonance Imaging Application to Live Horse for Diagnosis of Tendinitis. J Vet Med Sci. 2002;64(7):577–82. doi: 10.1292/jvms.64.577.

3. Karlin WM, Stewart AA, Durgam SS, Naughton JF, O'Dell-Anderson KJ, Stewart MC. Evaluation of experimentally induced injury to the superficial digital flexor tendon in horses by use of low-field magnetic resonance imaging and ultrasonography. *Am J Vet Res.* 2011;72(6):791–8. doi: 10.2460/ajvr.72.6.791.
4. Smith R, McIlwraith W, Schweitzer R, Kadler K, Cook J, Caterson B, Dakin S, Heinegård D, Screen H, Stover S, Crevier-Denoix N, Clegg P, Collins M, Little C, Frisbie D, Kjaer M, van Weeren R, Werpy N, Denoix JM, Carr A, Goldberg A, Bramlage L, Smith M, Nixon A. Advances in the understanding of tendinopathies: A report on the Second Havemeyer Workshop on equine tendon disease. *Equine Vet J.* 2014;46(1):4–9. doi: 10.1111/evj.12128.
5. Siedentopf CM. fMRI easy. <http://www.fmri-easy.de/start1.htm>

Kontakt

PD Dr. Kerstin Gerlach, Klinik für Pferde, Universität Leipzig
gerlach@vetmed.uni-leipzig.de

MRT Diagnostik und Therapie des Fesselträgerursprunges

Birte Drees

Pferdeklinik Leichlingen GmbH

Insertionsdesmopathien des Fesselträgerursprungs werden bislang mittels diagnostischer Anästhesien, Röntgen und Ultraschall erfolgreich diagnostiziert. Aufgrund von detaillierten Schichtbildaufnahmen, hohen Kontrastdifferenzen der einzelnen Strukturen und der hohen Bildauflösung ermöglicht uns die Magnetresonanztomographie oftmals mehr Informationen aus dem Bereich des Fesselträgerursprungs zu erlangen.

Sowohl in der präzisen Diagnose als auch in Verlaufsuntersuchungen ist das MRT anderen bildbegeben Verfahren überlegen.

Knochenödeme des Röhrbeins an der Anheftungsstelle des M. interosseus sind beispielsweise nur im MRT zu ermitteln, desweiteren fallen durch die transversale Schichtbildtechnik bereits kleine periostale Veränderungen an der Oberfläche des Röhrbeins auf, die im Röntgen noch nicht sichtbar sind. Leichte Schwellungen, Faserunterbrechungen, Verklebungen oder entzündliche Reaktionen des Fesselträgers sind im MRT frühzeitig zu erkennen, bevor sie im Ultraschall darstellbar sind.

Darüber hinaus hilft das MRT auch bei der Entscheidung einer akkuraten Therapie wie z.B. fokussierte Stoßwellentherapie, Stammzell-Injektionen, PrP-Injektionen oder auch eventuellen chirurgischen Therapiemaßnahmen, wie z.B. Neurektomie des N. plantaris lateralis oder Fasciotomie.

Auch im Heilungsverlauf von Desmopathien des M. interosseus medius unterstützt uns das MRT bei der Anpassung des Trainings. Dadurch wird eine zu kurze Zeit der Rekonvaleszenz vermieden, Rezidive verhindert und der optimale Zeitpunkt für den Trainingsbeginn bestimmt.

Kontakt

Birte Drees, Pferdeklinik Leichlingen GmbH, Leichlingen
b.drees@pferde

MRT Diagnostik und Therapie des Fesselgelenkes

Franziska Kremer, Mahmoud Mageed

Tierklinik Lüsche GmbH

Die Magnetresonanztomographie (MRT) stellt eine zusätzliche Untersuchungsmethode bei Lahmheitsursachen aus dem Bereich des Fesselgelenkes dar. Da es sich um eine Schichtbilddiagnostik handelt und bei der MRT Untersuchung wegen des hohen Weichteilkontrasts sowohl Knochen als auch Weichteilgewebe sehr gut beurteilt werden können, sind beteiligte Strukturen ergänzend zu herkömmlichen diagnostischen Methoden wie Röntgen und Ultraschall detailliert untersuchbar. Sowohl Therapie als auch Prognose können anschließend an eine präzise Diagnose angepasst werden.

Die distale Vordergliedmaße ist deutlich anfälliger für Verletzungen als anderen Gliedmaßenregionen. Zusätzlich haben 75% aller Vorderbeinlahmheiten ihren Ursprung distal und das Fesselgelenk ist am häufigsten von allen Gelenken des Pferdes verletzt (1). Es bestehen u.a. folgende Indikationen für eine magnetresonanztomographische Untersuchung (2):

1. Lokalisation des Schmerzes durch eine perineurale, intraartikuläre oder intratendovaginale diagnostische Anästhesie im Bereich des Fesselgelenkes
2. Mittels Röntgen- und Ultraschalluntersuchung können keine die Lahmheit erklärenden Befunde erhoben werden

Das Fesselgelenk (*Articulatio metacarpophalangea*) nimmt eine besondere Stellung im anatomischen Zusammenhang der Gliedmaße ein, da es sich als einziges Gelenk bei stützender Gliedmaße in Hyperextensionsstellung befindet und somit besonderer Belastungen ausgesetzt ist. Die distale Gelenkfläche des Metacarpus/MettarsusIII (McIII/MtIII), die proximale Gelenkfläche des Fesselbeins, sowie das mediale und laterale Gleichbein gehören zu den knöchernen Strukturen des Fesselgelenkes. Diese sind prädisponiert für wiederholten Stress bei der Aufnahme des Körpergewichtes (3).

In der Untersuchung zu beurteilen sind unter anderem der Gelenkknorpel, seine Stärke und seine Kontur. Aufnahmen, die in einem Low Field System am stehenden Pferd angefertigt werden, zeigen häufig nicht die klar voneinander abgegrenzten Knorpelschichten. Somit sind dezente Gelenkknorpelschäden bestenfalls an der nicht belasteten Gliedmaße in einem High Field System zu detektieren. Die Beurteilung des subchondral liegenden Knochens ist hingegen mittels MRT sehr gut möglich. Seine Stärke und Dichte ist stark abhängig von der Lage im Gelenk und dem Alter des Pferdes, da sich der Knochen und seine Struktur den Belastungssituationen anpasst. Eine erhöhte Knochendichte ist dementsprechend nicht zwangsläufig Grund für eine Lahmheit. Das Scheitern des Anpassungsprozesses des Knochens führt zu einer Störung seiner Funktion, die klinisch als Lahmheit beobachtet werden kann. Die Überbeanspruchung des Knochens kann anschließend zu Veränderungen des hyalinen Knorpels und des subchondralen Knochens führen (4). Im Allgemeinen zeigt sich im Fesselgelenk die Tendenz einer negativen Korrelation zwischen subchondraler Knochendichte und Knorpeldicke. Eine Ausnahme bildet der Scheitelpunkt der Sagittalarinne, der neben einer hohen Dichte auch eine relativ hohe Knorpeldicke aufweist.

Subchondrale Knochenveränderungen spielen dementsprechend eine sehr wichtige Rolle bei Lahmheiten, die ihren Ursprung im Fesselgelenk haben und stehen in starker Abhängigkeit mit der Nutzung des Pferdes. Sie spielen sowohl eine wichtige Rolle in der Pathogenese der Osteoarthritis und der Osteochondrose, als auch in der von Frakturen und subchondralen Nekrosen. Es wurde

berichtet, dass an Vorder- und Hintergliedmaßen Knorpeldegenerationen fast immer am dorsalen Gelenkrand des Fesselbeins beginnen. Die Degeneration des Knorpels schreitet am Vorderbein über zentral nach palmar, am Hinterbein ist der plantare Gelenkbereich signifikant mehr betroffen und der zentrale Bereich signifikant weniger.

Knochenmarksödeme repräsentieren Flüssigkeitsansammlungen im Knochen. Sie treten in den meisten Fällen nach traumatisch bedingten Verletzungen des Bandapparates des jeweiligen Gelenkes oder nach Überlastung des Gelenkknorpels auf. Sie können Vorankündigungen von Frakturen der Kondylen aber auch Folge einer Nekrose sein. Mikrofissuren im subchondralen Knochen der Kondylen des MclII/MtIII sind röntgenologisch meist schwer zu detektieren. Die MRT Untersuchung hingegen gibt Hinweise in Form von linear verlaufenden Signalverstärkungen im Sagittalkamm umgeben von sklerotisch veränderter Substantia spongiosa (5).

Kurze inkomplette Fissuren im proximalen Fesselbein können röntgenologisch ruhig erscheinen, zeigen sich hingegen in der MRT mit einem deutlich erhöhten Signal im Fett unterdrücktem Scan und können teilweise bis in die Gelenkfläche reichen.

Knochenzysten können häufig mittels Röntgenbild dargestellt werden. In unklaren Fällen hilft die MRT Untersuchung um Ausmaße und Ursprung (traumatisch, Osteochondrose) zu beurteilen.

Die Gelenkkapsel ist geräumig und bietet dem Gelenk somit einen großen Bewegungsspielraum, reicht dorsal bis zur distalen Epiphysenfuge des MtIII/MclII und palmar bzw. plantar bis an die Enden des inneren und äußeren Griffelbeins. Kapsulitiden sowie chronisch proliferative Synovialitiden fallen im MRT häufig als Nebenfund auf. Ein einzigartiges anatomisches Merkmal des Fesselgelenkes ist das Vorhandensein einer Synovialplica, die von der Gelenkkapsel in der dorsoproximalen Aussparung gebildet wird. Diese Plica bedeckt die Übergangszone zwischen Gelenkknorpel und Gelenkkapselansatz. Es existieren einige Abnormalitäten im Bereich der Plica, wie Proliferationen oder in ihr liegende Fragmente. Ein vermehrtes Signal im Flüssigkeit nachweisendem STIR in der Region der Gelenkkapselinsertion am MclII/MtIII ist beispielsweise ein häufiger Befund bei der klinischen Symptomatik einer positiv verlaufenden Beugeprobe des Fesselgelenkes (6).

Das innere und äußere Seitenband mit ihren tiefen und oberflächlichen Anteilen stellen die seitliche Fixation des Fesselgelenkes dar. Die Seitenbänder sind in der MRT sich homogen darstellende Strukturen mit einer niedrigen Signalintensität. Meist sind inneres und äußeres Band von ihrer Größe nicht vollständig symmetrisch. Die oberflächlichen Anteile sind dicker und länger als die schrägen, tiefen Anteile. Getrennt werden die tiefen und oberflächlichen Anteile häufig durch Synovia, was die Beurteilung erschwert. Defekte der Kollateralligamente sind in der Regel gut sonographisch zu detektieren. Die Magnetresonanztomographie gibt zusätzlich Auskunft über Schäden im knöchernen Insertionsbereich. Darüber hinaus kann die MRT helfen den Verletzungszustand (akut bzw. chronisch) einzuschätzen und dementsprechend das Therapieregime anzupassen (7).

Der laterale und mediale Fesselträgerast sind gut definierte Strukturen und am besten in der transversalen Schnittführung zu beurteilen. Bei lahmfreien Pferden erscheinen die Fesselträgeräste symmetrisch mit leicht gemischtem Signal in allen Scanarten. Die zwei kleineren Äste, die zur Vereinigung mit der Strecksehne nach dorsal abgegeben werden, sind schwer im MRT darzustellen, sollten dennoch nicht vernachlässigt werden, da Verletzungen durchaus Lahmheiten auslösen können.

Das Ligamentum intersesamoidale verbindet die Gleichbeine miteinander und bietet eine palmare bzw. plantare Stütze des Fesselgelenkes. Das Signal ist heterogen und fokal teilweise von hoher Intensität. Das gerade Gleichbeinband (Lig. Sesamoideum rectum) reicht von der Basis der

Gleichbeine bis an die Kronbeinlehne und an die Spitze des Fesselbeindreiecks. Es neigt mit zunehmendem Alter des Patienten zur Mineralisierung und somit zu einer heterogenen Signalintensität.

Die kurzen und gekreuzten Gleichbeinbänder sind sehr dünn und häufig mittels MRT schwer darstellbar. Die schrägen Gleichbeinbänder liegen zwischen der Basis des jeweiligen Gleichbeins und der Fesselbeinleiste. Sie zeigen sich in der MRT mit heterogenem Signal, laterales und mediales Band sind in ihrer Größe meist nicht symmetrisch. Die schrägen und gekreuzten Gleichbeinbänder sind aufgrund ihres Faserverlaufes in der MRT Artefakt gefährdet. Angepasste Positionierung und kritische Bildinterpretation sind hier notwendig.

Das palmare bzw. plantare Fesselringband vereint sich mit der Fesselbeugesehnenscheide und kurz oberhalb des Fesselgelenkes ist die TBS von einer dünnen Schicht der Oberflächlichen Beugesehne, der Manica Flexoria, umgeben. Die Oberflächliche- und die Tiefe Beugesehne haben eine niedrige Signalintensität, ausgenommen an der Umschlagstelle palmar bzw. plantar des Fesselgelenkes – hier ist das Signal häufig gemischt. Die Fesselbeugesehnenscheide ist am besten in der transversalen Schnittführung zu beurteilen und stellt sich mit einer niedrigen Signalintensität dar. Die dorsale und laterale gemeinsame Zehenstrecksehne hat ein homogenes niedriges Signal und Verletzungen dieser Struktur sind selten und häufig nicht von klinischer Relevanz.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass Weichteilverletzungen primär gut mittels Sonographie zu diagnostizieren sind. In einigen Fällen, v.a. bei Verletzungen in Insertionsbereichen bietet die MRT deutlich mehr Informationen, so dass Therapie und Rehabilitation spezifischer angepasst werden können.

Therapie

Durch die MRT Untersuchung ist es möglich, eine sehr präzise Diagnose zu stellen und somit den aktuellen Verletzungszustand zu bestimmen und diesem ein optimales Therapieregime anzupassen.

Der Gelenkknorpel und der darunterliegende subchondrale Knochen kann über intraartikuläre Applikationen von Corticosteroiden wie Triamcinolonacetonid, Methylprednisolonacetat, Betamethasonacetat und Dexamethason-21-Palmitat kombiniert mit Hyaluronsäure behandelt werden. Auch die intraartikuläre Applikation von Polysulfatierten Glykosaminoglykanen (PSGAG) zeigt in einigen Fällen Erfolg.

Die regenerative Medizin, wie die Injektion von Interleukin-1-Rezeptor-Antagonist (IRAP), Platelet Rich Plasma (PRP) und Stammzellen werden häufig bei Gelenkknorpelläsionen und Weichteilproblematiken angewandt und bringen wechselnde Erfolge. Die Applikation von Polyacrylamid-Hydrogel in Fesselgelenke mit arthrotischen Veränderungen und mit chronisch proliferativen Synovialitiden wird zudem erfolgreich eingesetzt (8).

Literatur

1. Beccati F, Gialletti R, Giontella A, Davanzo S, Di Meo A, Pepe M. Morphologic radiographic study of the proximal sesamoid bones of the forelimb in thoroughbred racehorses in training. *J Vet Med Ser C Anat Histol Embryol.* 2014;43(5):403–7.
2. Daniel AJ, Judy CE, Saveraid T. Magnetic resonance imaging of the metacarpo(tarso)phalangeal region in clinically lame horses responding to diagnostic analgesia of the palmar nerves at the base of the proximal sesamoid bones: Five cases. *Equine Vet Educ.* 2013 May;25(5):222–8.
3. Butcher MT, Ashley-Ross MA. Fetlock joint kinematics differ with age in thoroughbred racehorses. *J Biomech.* 2002;35(5):563–71.

4. Barr ED, Pinchbeck GL, Clegg PD, Boyde A, Riggs CM. Post mortem evaluation of palmar osteochondral disease (traumatic osteochondrosis) of the metacarpo/metatarsophalangeal joint in Thoroughbred racehorses. *Equine Vet J.* 2009 Apr;41(4):366–71.
5. De Guio C, Ségard-Weisse E, Thomas-Cancian A, Schramme M. Bone marrow lesions of the distal condyles of the third metacarpal bone are common and not always related to lameness in sports and pleasure horses. *Vet Radiol Ultrasound.* 2019 Mar 1;60(2):167–75.
6. Hauspie S, Vanderperren K, Gielen I, Pardon B, Kromhout K, Martens A, et al. Magnetic Resonance Imaging of the Dorsal Proximal Synovial Plica of the Equine Metacarpo-/Metatarsophalangeal Joint. *Anat Histol Embryol.* 2016;45(1):19–27.
7. Zubrod CJ, Farnsworth KD, Tucker RL, Ragle CA. Injury of the collateral ligaments of the distal interphalangeal joint diagnosed by magnetic resonance. *Vet Radiol Ultrasound.* 2005 Jan;46(1):11–6.
8. de Clifford LT, Lowe JN, McKellar CD, Bolwell C, David F. Use of a 2.5% Cross Linked Polyacrylamide Hydrogel in the Management of Joint Lameness in a Population of Flat Racing Thoroughbreds: A Pilot Study. *J Equine Vet Sci.* 2019

Kontakt

Dr. Franziska Kremer, Tierklinik Lüsche GmbH Bakum
fkremer@tierklinik-luesche.de

MRT Diagnostik und Therapie der Fesselbeuge

Birte Drees

Pferdeklinik Leichlingen GmbH

MRT der Fesselbeuge - Standard oder Ausnahme?

Das MRT ist ein bildgebendes Verfahren zur Darstellung von Strukturen im Inneren des Körpers. Das MRT nutzt für die Darstellung die magnetischen Eigenschaften von Wasserstoff-Atomen. Der Patient wird bei einer MRT-Untersuchung einem Magnetfeld und hochfrequenten Wellen (Radiowellen) ausgesetzt, was als unschädlich angesehen wird.

Bei der MRT-Untersuchung am stehenden Pferd wird in der Regel ein Niederfeld-Magnet (0,27 Tesla bei dem Hallmarq-System) eingesetzt. Die Größe des Bildfeldes (Field of view) liegt bei ca. 13 cm Durchmesser. Dadurch ist es sinnvoll die distale Zehe in mehrere Regionen einzuteilen, wenn man Schichtbilder anfertigen möchte. Häufig wird sich hierbei auf die Huf- und/oder Fesselgelenksregion fokussiert. Es hat sich jedoch herausgestellt, dass die Untersuchung der Fesselbeuge fast immer notwendig ist, da einige Strukturen sonst nicht ausreichend dargestellt werden können und eventuelle pathologische Veränderungen übersehen werden.

Hierzu zählt die Beurteilung des gesamten Fessel- und Kronbeins, das Krongelenk mit seinem Gelenkknorpel und subchondralem Knochen, aber auch die Weichteilstrukturen wie die Kollateralbänder des Krongelenks, die Kollateralbänder des Strahlbeins, die palmaren/plantaren Krongelenksbänder (axiale und abaxiale), die distalen Gleichbeinbänder, die oberflächliche und tiefe Beugesehne und die Fesselbeugesehnenscheide.

Diagnostische Leitungsanästhesien oder intrasynoviale Anästhesien sind bei der Eingrenzung der zu untersuchenden Bereiche unerlässlich. Aufgrund dessen ist ein genauer Vorbericht über die orthopädische Untersuchung der erste Schritt zu einer erfolgreichen Diagnose mittels MRT.

Insbesondere Knochenmarksödeme, subchondrale Läsionen oder auch Weichteilverletzungen, wie z.B. Insertionsdemopathien der Kollateralbänder des Strahlbeins, sind im MRT besser darstellbar als in der alltäglichen Standard-Bildgebung, wie Röntgen oder Ultraschall.

Durch eine präzise Diagnose ist es anschließend auch möglich eine zielführende Therapie einzuleiten und das Training entsprechend anzupassen.

Kontakt

Birte Drees, Pferdeklinik Leichlingen GmbH, Leichlingen
b.drees@pferdeklinik-leichlingen.de

MRT Diagnostik und Therapie des Hufes

Andre Böhmer

Tierklinik Telgte

Einleitung

Die Low Field MRT Untersuchung der distalen Gliedmaße am stehenden Pferd gilt zurzeit als Goldstandard der bildgebenden Untersuchungsverfahren. Aufgrund des hohen Weichteilkontrastes sind hier Bandstrukturen und knöcherne Erkrankungen sehr gut darstellbar. Die Untersuchung findet am sedierten, stehenden Pferd statt und bietet so die Möglichkeit auf eine Vollnarkose zu verzichten. International kommt hier in erster Linie das 0,27 Tesla Gerät der Firma Hallmarq (1) zum Einsatz. Vor allem die Darstellung der innerhalb der Hornkapsel liegenden und daraus resultierend schwer zugänglichen Strukturen wird ermöglicht, da diese nur teilweise mittels Ultraschall zu untersuchen sind. Die Kollateralbänder des Hufgelenks sind nur zu ca. 1/3 darstellbar und auch die Darstellung der tiefen Beugesehne durch den Strahl bedarf intensiver Vorbereitung und viel Erfahrung durch den Untersucher. Vor allem die tieferliegenden Insertionen der Kollateralbänder und der tiefen Beugesehne (TBS) können hier nur schwierig bzw. nicht beurteilt werden. Die Aussage der röntgenologischen Untersuchung der knöchernen Anteile ist ebenfalls begrenzt zur Diagnosestellung geeignet. Entzündliche, hämorrhagische und nekrotische Veränderungen der knöchernen Strukturen, die im MRT als sogenannte ödemartige Veränderungen beschrieben werden, bleiben unerkannt.

Indikation

Dem MRT sollte immer eine ausführliche Lahmheitsuntersuchung zur Eingrenzung der Untersuchungsregion vorausgehen. Der MRT ist kein „Suchscan“. Die positive Palmarnervenanästhesie sowie die positive, aber unspezifische Hufgelenksanästhesie oder ein ausbleibender Therapieerfolg über das Hufgelenk werden als Indikation für weiterführende Bildgebung angesehen. Da aber eine Diffusion nach proximal nach TPA in vielen Fällen zur Anästhesie des R. dorsales sowie des proximalen Fesselbeins führen kann, muss bei fraglichen Befunden im Bereich des Hufes eine Ausweitung des zu untersuchenden Bereiches bis zum proximalen Fesselbein in Betracht gezogen werden(2).

Das MRT ermöglicht die Darstellung von Hufbein, Strahlbein und Kronbein sowie aller Weichteilstrukturen. Hierzu zählen vor allem TBS, Lig. impar, proximales Strahlbeinband, die Kollateralbänder des Hufgelenks, die Sohlenbinde sowie die Bursa podotrochlearis. Alle Strukturen die den Begriff des Palmar Foot Syndroms prägen, können hier differenziert werden. Aber auch das Wandhorn und damit verbundene Veränderungen wie z.B. eine Hornsäule können diagnostiziert werden.

Grenzen in der Diagnostik mittels MRT bestehen bei entzündlichen/traumatischen Veränderungen der Hufederhaut sowie bei Neuritiden der distalen Nervenbahnen. In der Humanmedizin wird Narbengewebe als sehr schmerzhaft beschrieben. Auch hierzu kann im Low Field MRT aufgrund des geringen Kontrastes des Narbengewebes keine konkrete Aussage getroffen werden(3).

Geringgradige Befunde zwischen zwei Schnitten können aufgrund der Schichtdicke nur schwer detektiert werden.

Knöcherne Erkrankungen, vor allem Frakturen, lassen sich im MRT aufgrund der hohen Signalstärke und des daraus resultierenden Artefaktes (fat/water cancellation) gut darstellen.

Hufbeinfrakturen, vor allem mit atypischem Verlauf können erkannt und teilweise im Anschluss mit ausgewählten Röntgenprojektionen sichtbar gemacht werden.

Hufgelenkserkrankungen

Erkrankungen der synovialen Einrichtungen gehen häufig mit deutlichen Gelenksergüssen einher. Die Darstellung flüssigkeitsgefüllter Einrichtungen im MRT ist aufgrund der hohen H⁺Protonenkonzentration eindeutig. Einblutungen in den synovialen Raum infolge traumatischer Prozesse/iatrogener Handlungen können ebenfalls anhand vorhandener Hämosiderinartefakte sicher dargestellt werden.

Eine Signalverstärkung der knöchernen, gelenknahen Areale erfolgt in der Regel korrespondierend zu Knorpelläsionen und kann als Hinweis auf einen Defekt des hyalinen Knorpels gewertet werden, welcher jedoch im Lowfield MRT nicht sichtbar ist. Asymmetrien des Gelenkspalts können, müssen aber kein eindeutiges Indiz einer/s Knorpelverdünnung-/defektes sein, da am stehenden sedierten Pferd häufig eine Kompression der medialen Gelenkflächen stattfindet. Chirurgische Interventionen können diese Defekte je nach Lokalisation aufgrund der schlechten Visualisierungsmöglichkeiten im Hufgelenk häufig nicht darstellen. Zystoide Defekte in Huf und Kronbein sind gut zu erkennen. In den meisten Fällen kann eine Verbindung zum Gelenk im MRT dargestellt werden. Eine chirurgische Therapie mit Curettage/Auffüllung der Zyste oder das Einbringen einer Schraube ist jedoch hier häufig aufgrund der Lage der Zyste nicht möglich.

In den meisten untersuchten Fällen hat schon eine Vielzahl von erfolglosen Gelenkbehandlungen, meist mit Kortikosteroiden und Hyaluronsäure stattgefunden, sodass im Anschluss an das MRT eine Medikation der nächsten Generation zum Einsatz kommt. Hier finden vor allem regenerative Eigenblutpräparate sowie Stammzellen oder Polyacrylnid Hydrogele Verwendung. Der Einsatz von Stammzellen wird durch kommerziell erhältliche Präparate vereinfacht.

Podotrochlose

Erkrankungen des Strahlbeins sowie der Weichteilstrukturen der Hufrolle gehören zu den häufigen Befunden im Huf(3,4). Alle mit Erkrankungen der Hufrolle assoziierten Strukturen können im MRT dargestellt werden. Es zeigen sich Veränderungen in allen mit dem Strahlbein verbundenen Strukturen.

Die im Rahmen der Röntgenuntersuchung zur Beurteilung des Strahlbeins herangezogenen Canales sesamoidales korrelieren kernspintomographisch nur bedingt mit entzündlichen Veränderungen des Strahlbeins und werden hier eher als Fingerabdruck des Pferdes angesehen(5).

Bei entzündlichen, ödemartigen Veränderungen kann eine Therapie mit Cortikosteroiden über das Hufgelenk, die Bursa podotrochlearis sowie systemisch mit Bisphosphonaten und nicht steroidalen Präparaten erfolgen. Um eine fehlerhafte Punktion des Hufgelenks auszuschließen, sollte die Punktion der Bursa unter röntgenologischer- oder sonographischer Kontrolle unter Schonung der TBS erfolgen (6). Als chirurgische Option kommt die Bursoskopie der Bursa podotrochlearis in Frage. Verletzungen der TBS können dargestellt und je nach Lokalisation debridiert werden. Zudem kann der Zugang zur Spülung sowie zur Versorgung im Rahmen von penetrierenden Verletzungen der Bursa genutzt werden. Die räumlichen Verhältnisse schränken die Visualität sowie die Versorgung von Befunden im distalen Bereich der Bursa jedoch ein.

Tiefe Beugesehne

Verletzungen der tiefen Beugesehne gehören ebenfalls zu den häufigen im MRT der distalen Gliedmaße erhobenen Befunden(3,4). Es können alle Bereiche von der Insertion am Hufbein bis in die Fesselbeuge betroffen sein. Sie reichen von feinen randständigen Veränderungen in einem oder

in beiden Schenkeln der TBS bis hin zu großen Faserdefekten über mehrere cm Länge. Die Prognose hinsichtlich restitutio ad integrum verschlechtert sich deutlich in Abhängigkeit zur Größe des Defektes. In der Regel werden diese Pferd auch nach langer Rekonvaleszenz nicht mehr in der bisherigen Leistungsklasse einsetzbar. Kleine, teils narbige Veränderungen sind aber auch regelmäßig beim lahmfreien Pferd anzutreffen. Ist die Verletzung proximal des Strahlbeins darstellbar kann therapeutisch eine ultraschallgeleitete intraläsionale Injektion mit Stammzellen etc. durchgeführt werden. Begleitend erfolgt hier ein kontrolliertes Bewegungsprogramm über mehrere Monate sowie eine Beschlagskontrolle-/korrektur. Eine lange Zehe sowie eine im Hufgelenk gebrochene Zehenachse sollte vermieden werden.

Kollateralbänder des Hufgelenks

Da der Hauptanteil der Kollateralbänder (2/3) innerhalb der Hornkapsel verläuft ist die bildgebende Diagnostik mittels Ultraschall eingeschränkt. Hier gibt die Bildgebung mittels MRT gute Erkenntnisse über Desmopathien der Seitenbänder sowie Insertionsdesmopathien lateral und medial an Huf- und Kronbein. Eine Therapie der Insertionsdesmopathien am Hufbein wird in vielen Fällen über eine Beschlagskorrektur mit einer Verbreiterung des jeweiligen Schenkels der betroffenen Seite unterstützt. Sonographisch geleitete Injektionen in den Bandapparat (7) sind ebenfalls im Einsatz. Auch hier kommen die zuvor beschriebenen regenerativen Präparate zum Einsatz. In der Regel sind Verletzungen der Kollateralbänder mit einem längeren Ausfall des Pferdes verbunden.

Penetrierende Verletzungen

Ein weiteres Einsatzgebiet bietet der MRT im Rahmen der Abklärung penetrierender Verletzungen der Sohle sowie der angrenzenden Weichteilstrukturen und synovialen Einrichtungen. Da das weiche Sohlenhorn sehr quellfähig ist, sind Verletzungen sowie Stichtiefe und -richtung in diesem Bereich häufig schwierig festzustellen. Kernspintomographisch können Stichkanal und Stichrichtung jedoch deutlich dargestellt werden. Aufgrund der Einblutungen im Bereich der Sohle nach Penetration der Huflederhaut sind Hämosiderinansammlungen in diesem Bereich pathognomonisch, auch wenn ein Stichkanal visuell im weichen Sohlenhorn lange nicht mehr zu erkennen ist. Bei älteren tiefen Verletzungen sind zudem entzündliche, ödemartige Befunde der knöchernen Strukturen deutlich.

Da es sich bei Stichverletzungen mit Beteiligung von synovialen Einrichtungen um eine lebensbedrohliche Verletzung handelt, ist eine intensive Therapie mit chirurgischer Darstellung des Stichkanals, Lavage von Hufgelenk und Bursa sowie einer begleitenden lokalen und systemischen antibiotischen Behandlung indiziert.

Literatur

1. Hallmarq distal limb scanner, Hallmarq Veterinary Imaging Ltd Unit 5, Bridge Park, Guildford, Surrey, GU4 7BF, UK
2. A. Nagy, R. Molton; Diffusion of radiodense contrast medium after perineural injection of the palmar digital nerve, EVE 2015;27: 648-654
3. Rachel C. Murray (Editor), Equine MRI; Wiley-Blackwell, 1. Edition 2011; S. 9
4. T. Stöckl, T. Schulze, W. Brehm, K. Gerlach. Vergleichende bilaterale magnetresonanztomographische Untersuchung der Hufregion im Niederfeld MRT Teil 2: Häufigkeit der Befunde und deren Verteilung
5. A. Floyd, R. Mansmann: Hufkrankheiten Diagnostik-Therapie-orthopädischer Beschlag: 8 Bildgebende Verfahren, S. 122
6. K. Nottrott, C. De Guio, A. Khairoun, M. Schramme; An ultrasound tendon-sparing, lateral approach to injection of the navicular bursa, EVJ. 2017;49(5):655-661

7. C Jordan Kirkpatrick, Nicolas S Ernst and ,Troy N Trumble;Palmar/Plantar approach for radiographic-guided injection of the equine distal interphalangeal joint collateral ligament insertion, Vet Rec. 2019;184,17: 527

Kontakt

Dr. Andre Böhmer, Tierklinik Telgte, Telgte
boehmer@tierklinik-telgte.com

Rechtliche Aspekte der MRT Diagnostik beim Pferd

Hartmut Gerhards

München

Zu diesem Vortrag wurde kein Manuskript eingereicht

Untersuchung und Diagnostik bei Hauterkrankungen - ein Update für die Praxis

Marianne M. Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan

Departement of Clinical Sciences, Utrecht, Niederlande

Einleitung

In der Diagnostik von Hautkrankheiten ist es sehr wichtig, zunächst das Signalement zu notieren und eine umfassende Anamnese (Vorbericht) aufzunehmen. Viele Hautbeschwerden werden erst in vorangeschrittenem Stadium vorgestellt, und vielfach wurden bereits ein (oder mehrere) Behandlungsversuche unternommen. Nach der Anamnese sollte eine gründliche klinische Untersuchung durchgeführt werden. Danach kann eine „Problemliste“ erstellt werden und es wird deutlich, welche zusätzlichen Tests oder Untersuchungen notwendig sind.

Signalement

Ein gutes Signalement (Rasse, Alter, Geschlecht, Farbe etc.) ist essenziell, da diese Beschreibung des Pferdes das mögliche Krankheitsspektrum deutlich eingrenzt.

- Die Rasse spielt eine Rolle, da es einige wichtige rassenspezifische Hautkrankheiten gibt, wie z. B. die Hypotrichose der Schweifhaare bei Appaloosa-Pferden oder das Arabian fading syndrome; ferner sind einige Hauterkrankungen bei bestimmten Rassen eine „Katastrophe“ (nicht für das Pferd, aber für den Besitzer), wie z. B. Leukotrichie bei einem Friesen.
- Das Alter spielt eine Rolle, da einige Störungen wie die kongenitalen Hautdefekte normalerweise von Geburt an vorliegen (erworbene Krankheiten hingegen nicht unbedingt); Hypertrichosis beim Pferd, der nur im Gefolge des PPID- Syndroms (Cushing) entsteht, tritt nur beim älteren Pferd auf; Warzen (equine Papillomatose) sind bei Jährlingen und Zweijährigen in Weidehaltung am häufigsten.
- Das Geschlecht spielt bei Hautkrankheiten eine untergeordnete Rolle, da es wenige oder keine Störungen gibt, die auf das eine oder andere Geschlecht beschränkt sind.
- Die Farbe ist von Bedeutung, da es einige Krankheiten wie z. B. das Melanom gibt, die mit der Farbe verknüpft sind; darüber hinaus hat unpigmentierte Haut z.B. eine Prädisposition zu Entzündungsreaktionen und Plattenepithelkarzinom.

Anamnese (Vorbericht)

Zur Aufnahme eines guten Vorberichts ist es wichtig, dass der Tierarzt tatsächlich mit der Person spricht, die am meisten über den Patienten, die anderen Pferde der Anlage oder des Gestüts und das Management weiß. Wichtige anamnestische Fragen sind:

- Seit wann besteht das Problem?

Häufig sieht der Tierarzt nicht das ursprüngliche Problem, sondern wird erst nach Wochen oder gar Monaten gerufen, wenn die Primärläsionen wahrscheinlich verschwunden sind. Angaben über Beginn und Dauer können Informationen zur wahrscheinlichen Ausgangskrankheit enthalten.

- Wie und an welcher Stelle haben die Veränderungen angefangen?

Auch dies kann Licht auf die primäre Ursache des Problems werfen, insbesondere dann, wenn die Krankheit sich inzwischen auf den ganzen Körper ausgebreitet hat.

- Sind die ersten Läsionen plötzlich oder nach und nach aufgetreten, und wie sahen sie aus?

- Hat sich der Zustand verbessert oder verschlechtert (mit oder ohne Behandlungsversuche)?

In der Mehrzahl der Fälle wird der Besitzer zunächst versucht haben, die frühen klinischen Symptome zu ignorieren oder selbst zu behandeln. Einige werden nicht zugeben wollen, dass sie versucht haben, die Krankheit zu behandeln, sodass das klinische Bild infolge sekundärer Veränderungen durch Aufschieben, Selbstverletzung oder Behandlungsfehler verworren und verzerrt sein kann.



Abbildung 1: Photosensibilität in eine 1,5-jährige Araber Stute

- Liegt Juckreiz vor (Benagen, Scheuern, Auskeilen)?

Es ist wichtig, diese Frage mehrfach auf verschiedene Weise zu stellen; Besitzer und Pfleger verstehen nicht immer, was Juckreiz bedeutet; wenn sie eine Urtikaria sehen, meinen sie (in Analogie zu sich selbst), es müsse sich um einen juckenden Zustand handeln, und machen vielleicht diese irreführende Aussage.

- Methode und Regelmäßigkeit der Fellpflege, hat jedes Pferd eigenes Putzzeug?

Informationen zur Fellpflege können Hinweise geben, ob sich die Krankheit auf mehrere Tiere ausgebreitet haben kann

- Sind ein oder mehrere Tiere betroffen, sind diese Tiere gemeinsam auf einer Koppel oder in einem Stall untergebracht, oder verteilen sie sich über das gesamte Gehöft?

Diese Information zeigt, ob es sich um eine ansteckende Krankheit handelt.

- Sind Menschen, die Umgang mit den Pferden haben, ebenfalls betroffen?

Nur wenige equine Dermatosen sind humanpathogen. Wurde das Tier vorbehandelt, und wenn ja, wie sah die Behandlung aus und welche Auswirkungen hatte sie?

Dies ist einer der wichtigsten Aspekte des Vorberichts, und es ist mit vielen irreführenden Aussagen zu rechnen. Zum Beispiel kann ein Besitzer behaupten, ein Zustand sei akut, wenn tatsächlich die akute Komponente durch eine zu starke Medikation bei einem ursprünglich geringgradigen chronischen Problem verursacht wurde. Der Besitzer ist möglicherweise nicht bereit, irrationale oder andere Behandlungen zuzugeben.

- Informationen über spezielle Management- und Routinemaßnahmen
Wachsen z. B. Pflanzen wie *Hypericum perforatum* (Johanniskraut) auf der Weide?
Eine Weideüberprüfung kann erforderlich sein. Ferner sind Pferde, die im Winter in schlechter körperlicher Verfassung und schlecht ernährt sind, anfälliger für Läusebefall und Streptotrichose (Dermatophilose). Eine Stute, die kürzlich gedeckt wurde, kann sich mit koitalem Exanthem angesteckt haben. Pferde, die für Turniere häufig gewaschen werden, können trockene schuppige Haut entwickeln, wenn keine speziellen Pferdeshampoos verwendet werden. Pferde, die bei Turnieren o. Ä. mit anderen Pferden zusammentreffen, können von dort infektiöse Krankheiten einschleppen.
- Der Impf- und Entwurmungsstatus sollten ermittelt werden.
Beispielsweise ist bei Pferden, die regelmäßig mit einem Ivermectin-haltigen Mittel entwurmt wurden, nicht mit einer durch *Onchocerca* spp. verursachten Dermatitis zu rechnen.



Abbildung 2: Hypertrichosis in eine 25-jährige Vollblut Wallach mit PPID

Klinische Untersuchung

Die klinische Untersuchung des Patienten ist entscheidend. Leicht lässt man sich zu einer eingeschränkten und einschränkenden Untersuchung der Haut verleiten und verliert darüber den Patienten als Ganzes aus den Augen. Jedoch entstehen viele Hautprobleme sekundär infolge anderer Krankheiten. Beispielsweise kann ein Pferd, das eine ausgeprägte Photosensibilität zeigt, an einer schweren Lebererkrankung leiden, und obwohl es möglich ist, die augenfälligen Symptome durch simples Aufstallen des Pferdes zu verbessern, so ist es doch eine Katastrophe, wenn die Behandlung des schwerer wiegenden Problems unterlassen wird. Die klinische Untersuchung kann die Untersuchung anderer Pferde und sogar anderer Spezies einschließen, die mit dem Patienten in Kontakt stehen. Nach Abschluss der allgemeinen Untersuchung der Organsysteme muss eine detailliertere dermatologische Untersuchung erfolgen.

Die Untersuchungsergebnisse sollten sorgfältig protokolliert werden. Ein vorgedruckter Fragebogen ist hilfreich, da er Fehler und Auslassungen minimiert und die genaue Aufzeichnung des Gesundheitsstatus des Pferdes ermöglicht. Kontrolluntersuchungen werden erleichtert, und für den Fall, dass ein Kollege oder eine Überweisungsklinik das Pferd untersucht, kann der vollständige klinische Vorbericht leicht zur Verfügung gestellt werden. Auch wird eine objektive Beurteilung des Behandlungsfortschritts ermöglicht.

Manchmal ist eine Fotodokumentation sehr nützlich (und heutzutage durch Digitalkameras deutlich leichter), die stundenlange Schreibarbeit ersparen kann.

Die klinische Untersuchung der Haut besteht aus einer allgemeinen und einer lokalen Inspektion. Es ist zu achten auf:

- lose oder abgebrochene Haare,
- Schmutz oder Parasiten
- spezifische Läsionen.

Allgemeine Inspektion

- Felltyp

Sommer- und Winterfell sind deutlich verschieden. Ein Pferd mit langem, nicht ausgehendem Fell im Sommer leidet vermutlich am PPID (Cushing-Syndrom).

- Befestigung und Anordnung der Haare

Die Haare sollten nicht leicht auszuziehen sein. Der Versuch, einzelne Haare auszureißen, kann ergeben, dass einige leicht ausgehen und andere sehr festsitzen. Die genaue Untersuchung dieser Haare unter dem Mikroskop zeigt, ob der Schaft gebrochen ist oder die Haare aus dem Haarfollikel verdrängt wurden. Das Verhältnis von ausrufezeichenförmigen zu zwiebel förmigen Haaren wird als Trichogramm notiert. Das Trichogramm ist ein Hilfsmittel zur Beurteilung des Verhältnisses von anagenem zu telogenem Haar, der Zahl der gebrochenen Haarschäfte und der Qualität der Haarschäfte. Leider wird es nur von wenigen Pferdepraktikern eingesetzt, sodass wir wenig über die Abweichungen bei verschiedenen Beschwerden wissen (z. B. sieht man beim allergischen Sommerekzem starken Haarbruch sowohl für die dickeren als auch für die feinen Haare, wohingegen bei der

Alopecia areata die wenigen vorhandenen Haare eine schwache Haarzwiebel und einen dünnen Schaft haben). In einigen Fällen zeigen die Haare lokal begrenzt oder auf größeren Körperarealen eine veränderte Farbe oder Beschaffenheit.

- Dichte des Fells

Alopezie oder Hypertrichosis sind sehr wichtige klinische Symptome, und die Lage der veränderten Stellen ist oft ein guter Hinweis auf die mögliche Ursache. Bereiche mit Alopezie können auch Hautveränderungen wie Verdickung, Schuppenbildung oder Exsudation aufweisen.

- Glanz und Farbe der Haare

Während lokale Veränderungen von Glanz und Farbe regelmäßig bei dermatologischen Erkrankungen gesehen werden, können generalisierte Veränderungen wie struppiges gesträubtes Fell mit rauer Haarqualität Ausdruck einer schweren systemischen Erkrankung sein. Die alte Maxime „die Haut ist der Spiegel des Gesundheitszustands“ ist Erinnerungswert.

- Vorhandensein oder Abwesenheit von Schmerzen an den Läsionen

Einige Beschwerden sind durch Schmerzen charakterisiert, während andere bei Berührung eine „Kratzreaktion“ auslösen (erkennbar an einem Ausdruck von „Wohlgefallen“ wie Maulzucken oder Anlehnen).

Labortests und weiterführende Untersuchungen

- Parasitologische Untersuchung
- Untersuchung auf Pilzinfektionen (Kultur und PCR)
- Bakterienkultur
- PCR für Virus (PCR BPV – Sarkoiden)

- Histopathologische Untersuchung
 - Stanzbiopsie
 - Flachschnittbiopsie
 - Exzisionsbiopsie
- Wirkung der Ausschaltung des auslösenden Faktors

Kontakt

Prof. Dr. M.Sloet, Departement of Clinical Sciences, Utrecht, die Niederlande
m.sloet@uu.nl

Sommerekzem - Pathogenese und Immunmechanismen

Bettina Wagner

Department of Population Medicine and Diagnostic Sciences, College of Veterinary Medicine, Cornell University, Ithaca, USA

Das Sommerkermekzem ist eine saisonale Immunglobulin E (IgE)-vermittelte, allergische Dermatitis bei Pferden. Die Erkrankung ist charakterisiert durch Juckreiz, Alopezie und Exkoriationen, die während der Sommermonate auftreten. Im Winter verschwinden die klinischen Allergiesymptome, um im nächsten Sommer erneut aufzutreten. Das Sommerkermekzem ist auch bekannt unter dem Namen 'sweet itch' oder 'insect bite hypersensitivity'. Alle Pferderassen können betroffen sein und die Allergie wurde u.a. bei Islandpferden, Vollblütern, Arabern, Warmblütern, Kaltblütern, Friesen und verschiedenen Ponyrassen beschrieben. Das Sommerkermekzem ist in fast allen Ländern beschrieben worden, in denen *Culicoides* Mücken (Gniten) vorkommen (1-6).

Die Allergie wird durch Proteine aus dem Speichel der blutsaugenden, weiblichen Mücken ausgelöst, die während des Stiches in die Haut des Pferdes injiziert werden. Der Speichel von *Culicoides* enthält eine Reihe pharmakologisch aktiver Substanzen, die die Blutgerinnung hemmen, die Spaltung von Zuckern fördern, und die Immunabwehr unterdrücken (7). Vergleichende Studien mit Extrakten verschiedener *Culicoides* Spezies in Intrakutantests zeigten, dass Pferde mit Extrakten aller verschiedenen Spezies reagierten, selbst wenn sie vorher nur zu einigen *Culicoides* Spezies Kontakt hatten (2). Dies weist darauf hin, dass die auslösenden Allergene des Sommerkermekzems zwischen verschiedenen *Culicoides* Spezies stark konserviert sind. Inzwischen sind verschiedene *Culicoides* Speichelproteine als Allergene identifiziert.

Aufgrund der Beobachtung von Sofortreaktionen in Intrakutantests wurden IgE-vermittelte Immunreaktionen seit über 30 Jahren als ursächlich für das Sommerkermekzem angesehen (1). Inzwischen wurde die IgE-vermittelte Pathogenese für das Sommerkermekzem auch experimentell durch eine sogenannte 'Praznitz-Küstner Reaktion' bestätigt (8). Dabei wurde IgE von allergischen Pferden mit Sommerkermekzem in die Haut von gesunden Empfängerpferden injiziert. Am nächsten Tag erhielten die gesunden Empfängerpferde an den gleichen Hautstellen eine intradermale *Culicoides*-Extrakt Injektion. Dies löste an den vorherigen IgE Injektionsstellen eine allergische Sofortreaktion aus, während *Culicoides*-Extrakt, ohne vorherigen IgE Injektion oder nach vorheriger Injektion von IgE von gesunden Pferden in gesunden Empfängertieren, keine Reaktionen hervorrief.

Die Immunpathogenese des Sommerkermekzems ist höchstwahrscheinlich der von humanen IgE-vermittelten Allergien sehr ähnlich (7). Das Sommerkermekzem ist eine multifaktorielle Erkrankung und die klinische Ausprägung hängt von mehreren Faktoren ab, darunter genetische Veranlagung, Umwelteinflüsse, dem wiederholten Kontakt zu *Culicoides* Mücken, sowie der individuellen Kondition und Immunantwort des jeweiligen Pferdes.

Die Sensibilisierung von Hautmastzellen und basophilen Granulozyten stellt das zentrale Ereignis in der Pathogenese des Sommerkermekzems dar und geht der klinischen Erkrankung oft um Monate voraus. Trotzdem führt eine Mastzellsensibilisierung mit *Culicoides*-spezifischen IgE nicht automatisch bei jedem Pferd zum Sommerkermekzem. Auch klinisch gesunde Pferde können gegen *Culicoides* sensibilisiert sein (9), sind aber in der Lage ihre Immunantwort so zu regulieren, dass es nicht zur Ausprägung klinischer Allergiesymptome kommt. Die genauen Immunmechanismen, die zum Sommerkermekzem führen, sind beim Pferd noch nicht in allen Details untersucht. Die gegenwärtig favorisierte Hypothese ist, dass der Beginn der klinischen Allergie mit einem Verlust der

Immunkontrolle gegen das Allergen zusammenfällt. Dies ist durch eine erhöhte Anzahl von allergen-spezifischen T-Helferzellen (Th2-Zellen) charakterisiert, die zeitgleich mit einer Reduktion der Anzahl und Funktion von regulatorischen T-Zellen (Treg-Zellen) einhergeht. Die verringerte Fähigkeit des Immunsystems die Immunreaktion gegen *Culicoides* Allergene zu regulieren führt dann höchstwahrscheinlich zur Erhöhung der Th2-Immunantwort und in deren Folge der *Culicoides*-spezifischen IgE Produktion. Letztere löst schließlich die klinische Allergie aus.

Immunmechanismen, die zum Sommerekzem führen, wurden vor allem in Islandpferden untersucht. Pferde mit klinischer Allergie hatten erhöhte *Culicoides*-spezifische Th2-Zellantworten im Vergleich zu klinisch gesunden Pferden. Pferde, die aus Island exportiert wurden und ein Sommerekzem entwickelten, hatten höhere allergen-spezifische Th2-Zellen als allergische Pferde, die in Mitteleuropa geboren wurden (10). Daraus lässt sich ableiten, dass die erhöhte Sommerekzemanfälligkeit von exportierten Islandpferden durch den späten ersten Kontakt des Immunsystems mit *Culicoides* Allergenen beeinflusst wird. Das Immunsystem des erwachsenen Pferdes erkennt die Allergene zu diesem Zeitpunkt oft nicht mehr als harmlos. Im Gegensatz dazu reagiert das Immunsystem von Fohlen und jungen Pferden anders als das von ausgewachsenen Pferden (11). Die frühe Auseinandersetzung des Immunsystems des jungen Pferdes mit *Culicoides* Allergenen führt vermutlich zu den notwendigen immunregulatorischen Mechanismen, die eine Allergieentwicklung auf Dauer verhindern.

Literatur

1. Larsen HJ, Bakke SH, Mehl R. Intradermal challenge of Icelandic horses in Norway and Iceland with extracts of *Culicoides* spp. Acta Vet. Scandinavica 1988; 29:311-314.
2. Anderson GS, Belton P, Kleider N. Hypersensitivity of horses in British Columbia to extracts of native and exotic species of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae). J. Med. Entomol. 1993; 30: 657-663.
3. Littlewood JD. Incidence of recurrent seasonal pruritus ('sweet itch') in British and German Shire horses. Vet. Res. 1998; 142:66-67.
4. Lange S, Hamann H, Deegen E et al. Investigation of the prevalence of summer eczema in Icelandic horses in northern Germany. Berliner Münchener Tierärztliche Wochenschrift 2005; 118:481-489.
5. Björnsdóttir S, Sigvaldadóttir J, Broström H et al. Summer eczema in exported Icelandic horses: influence of environmental and genetic factors. Acta Vet. Scandinavica 2006; 48:3.
6. Van Grevenhof EM, Ducro B, Heuven HC et al. Identification of environmental factors affecting the prevalence of insect bite hypersensitivity in Shetland ponies and Friesian horses in The Netherlands. Equine Vet. J. 2007; 39:69-73.
7. Schaffartzik A, Hamza E, Janda J et al. Equine insect bite hypersensitivity: What do we know? Vet. Immunol. Immunopathol. 2012; 147:113-126.
8. Wagner B, Miller WH, Morgan EE et al. IgE and IgG antibodies in skin allergy of the horse. Vet. Res. 2006; 37:813-825.
9. Wagner B, Miller WH, Erb HN et al. Sensitization of skin mast cells with IgE antibodies to *Culicoides* allergens occurs frequently in clinically healthy horses. Vet. Immunol. Immunopathol. 2009; 132:53-61.
10. Hamza E, Wagner B, Jungi TW et al. Reduced incidence of insect-bite hypersensitivity in Icelandic horses is associated with a down-regulation of interleukin-4 by interleukin-10 and transforming growth factor- β 1. Vet. Immunol. Immunopathol. 2008; 122:65-75.
11. Wagner B, Burton A, Ainsworth DM. Interferon-gamma, interleukin-4 and interleukin-10 production by T helper cells reveals intact Th1 and regulatory T_H1 cell activation and a delay of the Th2 cell response in equine neonates and foals. Vet. Res. 2010; 41:47.

Neue Therapiemethoden bei Equinen Sarkoiden

Judith Christine Winter, Johanna Loschelder, Heidrun Gehlen

Klinik für Pferde, Allgemeine Chirurgie und Radiologie, Freie Universität Berlin

Das Equine Sarkoid ist der häufigste Hauttumor der Pferde und die Therapiemöglichkeiten sind sehr vielfältig. Je nach Sarkoidtyp und Lokalisation werden unterschiedliche Behandlungen empfohlen. Wichtig ist zu bedenken, dass es nach jeder Behandlung zu Rezidiven kommen kann, die häufig aggressiver als der ursprüngliche Tumor sind. Daher ist eine gute Besitzeraufklärung unbedingt nötig. Zu den neuen Therapiemöglichkeiten zählt die Injektion von Oncept IL-2 (einem rekombinanten Poxvirus, das lokal felines IL-2 exprimiert), die bei 70% der behandelten Sarkoide zu einer Größenreduktion von >50% führte (eigene Daten, unpubliziert) und sich für den Einsatz bei okkulten oder kleineren nodulären Sarkoiden eignet. Zu Tele- und Brachytherapie, obwohl beide schon seit vielen Jahren beschrieben sind, gibt es vielversprechende aktuelle Publikationen. Allerdings ist für die Teletherapie ein Linearbeschleuniger nötig, den es derzeit für den Einsatz beim Pferd nur in einer Klinik in Deutschland gibt. Die Brachytherapie erzielt Erfolgsraten von bis zu 100% bei periokulären Sarkoiden. Bei der photodynamischen Therapie werden photosensibilisierende Farbstoffe in Kombination mit Licht eingesetzt. Die Wirksamkeit wird durch die gleichzeitige Gabe eines Glykolyseinhibitors erhöht. In einer aktuellen Studie wurde hiermit in 93% der behandelten Sarkoide eine Größenreduktion von >30% erzielt.

In Tabelle 1 finden Sie eine Übersicht über Erfolgsaussichten, Verfügbarkeit und ungefähre Kosten wichtiger Behandlungsoptionen Equiner Sarkoide. Hierbei ist zu bedenken, dass Erfolgsraten von Studien nur sehr bedingt vergleichbar sind, da sowohl die Definition von Erfolg als auch Beobachtungszeiträume und Sarkoidtypen sehr verschieden sind.

Tabelle 1: Übersicht über Erfolgsraten, Verfügbarkeit und ungefähre Kosten verschiedener Therapieoptionen von Equinen Sarkoiden. Abgeändert nach Loschelder et. al (8).

Therapie	Erfolgsrate	Verfügbarkeit	Kosten (ungefähr)	Bemerkungen
Strahlentherapie	100 %	Ein Zentrum in Deutschland	~ 2000 €	Studie bei periokulären Sarkoiden
Chirurgie (konventionell)	28-82 %	gut	150-1000 €	Evtl. Allgemein-anästhesie nötig
Chirurgie (Laser)	63-83 %	Laser ist nötig	600-1200 €	Evtl. Allgemein-anästhesie nötig
XX Terra® /Sarc off® / Newmarket bloodroot ointment® / Dermequin®	66 %	Umwidmung eines tiermedizinischen Fertigarzneimittels aus EU-Land möglich	70 €/50 g	Derzeit nur Newmarket bloodroot ointment® und Dermequin® verfügbar
Aciclovir	8-68 %	Umwidmung aus Humanmedizin möglich	5 €/2 g	Anwendung bei Schlachtequiden möglich

BCG	83-100 %	Umwidmung aus Humanmedizin möglich	180 €/50 ml	Studien nur bei periokulären Sarkoiden
Imiquimod	60 %	Umwidmung aus Humanmedizin möglich	100€/3g	-
Cisplatin	33-95%	Umwidmung aus Humanmedizin möglich	20 €/10 ml	Nur in 1 mg/ml in wässriger Lösung verfügbar
AW5 / AW4	35-80 %	Nicht nach Deutschland einführbar	300 €/Fall (Beratung & Salbe)	Herstellung in England individuell für Patienten, daher kein Fertigarzneimittel und keine Umwidmung möglich
5-Fluorouracil	62 %	Umwidmung aus Humanmedizin möglich	20 €/10 ml	-
Viscum album austriacus	67 %	Umwidmung aus Humanmedizin möglich	50 €/7 ml	-
Bleomycin	44 %	Umwidmung aus Humanmedizin möglich	70 €/15 mg	Nur als Injektions-lösung erhältlich
Interleukin 2	80 %	Umwidmung aus Humanmedizin möglich	400 €	Anwendung in Kombination mit Cisplatin
Kryotherapie	42-80 %	Equipment muss vorhanden sein	50 €/7 ml	-

Weiterführende Literatur

1. Byam-Cook K., Henson F., Slater J. Treatment of periocular and non-ocular sarcoids in 18 horses by interstitial brachytherapy with iridium-192. Vet. Rec. 2006; 159: 337.
2. Carstanjen B., Jordan P., Lepage O. M. Carbon dioxide laser as a surgical instrument for sarcoid therapy – a retrospective study on 60 cases. Can. Vet. J. 1997; 38: 773.
3. Christen-Clottu O., Klocke P., Burger D., Straub R., Gerber V. Treatment of clinically diagnosed equine sarcoid with a mistletoe extract (Viscum album austriacus). J. Vet. Intern. Med. 2010; 24: 1483–1489.
4. Compston P., Turner T., Wylie C., Payne R. Laser surgery as a treatment for histologically-confirmed sarcoids in the horse. Equine Vet. J. 2016; 48 (4): 451-456.
5. Henson F., Dobson J. Use of radiation therapy in the treatment of equine neoplasia. Equine. Vet. Educ. 2004; 16: 315–318.
6. Hewes C. A., Sullins K. E. Use of cisplatin-containing biodegradable beads for treatment of cutaneous neoplasia in equidae: 59 cases (2000–2004). J. Am. Vet. Med. Assoc. 2006; 229: 1617–1622.
7. Knottenbelt D., Watson A., Hotchkiss J., Chopra S., Higgins A. A pilot study on the use of ultra-deformable liposomes containing bleomycin in the treatment of equine sarcoid. Equine. Vet. Educ. 2018; doi: 10.1111/eve.12950.

8. Loschelder J, Winter J, Gehlen H. Therapiemöglichkeiten bei Equinen Sarkoiden. *Pferdeheilkunde*. 2019; 35 (1): 25-33.
9. Martens A., De Moor A., Vlamincx L., Pille F., Steenhaut M. Evaluation of excision, cryosurgery and local BCG vaccination for the treatment of equine sarcoids. *Vet. Rec.* 2001; 149: 665–669.
10. Nogueira S. A., Torres S. M., Malone E. D., Diaz S. F., Jessen C., Gilbert S. Efficacy of imiquimod 5 % cream in the treatment of equine sarcoids: a pilot study. *Vet. Dermatol.* 2006;17: 259–265.
11. Spoomakers T. J., Klein W. R., Jacobs J. J., Van Den Ingh T. S., Koten J. W., Den Otter W. Comparison of the efficacy of local treatment of equine sarcoids with IL-2 or cisplatin/IL-2. *Cancer Immunol. Immunother.* 2003; 52: 179–184.
12. Stadler S., Kainzbauer C., Haralampus R., Brehm W., Hainisch E., Brandt S. Successful treatment of equine sarcoids by topical acyclovir application. *Vet. Rec.* 2011; 168:187.
13. Stewart A., Rush B., Davis E. The efficacy of intratumoral 5- fluorouracil for the treatment of equine sarcoids. *Aust. Vet. J.* 2006; 84:101– 106.

Kontakt

Dr. Judith Christine Winter, Klinik für Pferde, Allgemeine Chirurgie und Radiologie, Freie Universität Berlin

judith.winter@fu-berlin.de

Therapeutische Impfung mit tumorassoziierten Antigenen - eine klinische Studie bei equinen Melanomen

Jessika Cavalleri¹, J. Echelmeyer², R. Peckary¹, K. Feige²

¹Klinische Abteilung für Interne Medizin Pferde, Universitätsklinik für Pferde, Veterinärmedizinische Universität Wien; ²Klinik für Pferde der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

In der Immuntherapie von Hauttumoren des Pferdes kommen verschiedene Wirkstoffe mit unterschiedlichen Wirkmechanismen zur Anwendung. Für die Behandlung equiner Melanome zeigten spezifische therapeutische Antigen-Vakzine bislang variable Wirkung. Eine für die Behandlung von caninen, malignen Melanomen wurde eine von der US-FDA zugelassene DNA-Vakzine, kodierend für humane Tyrosinase (Oncept melanoma®, Merial Ltd., Athens, GA), in einer Untersuchung an gesunden Pferden von diesen gut vertragen. Die Pferde reagierten auf wiederholte Impfung sowohl mit Aktivierung des zellulären Immunsystems als auch mit der Bildung von Antikörpern gegen humane Tyrosinase.

In einer prospektiven klinischen Verlaufsstudie an 25 Pferden, die aufgrund von Melanomen an der Klinik für Pferde der Tierärztlichen Hochschule Hannover vorgestellt wurden, wurde die klinische Wirksamkeit der Vakzine Oncept melanoma® untersucht. Im Versuchszeitraum von 3,5 Jahren wurden Patienten eingeschlossen, die mindestens ein dermales Melanom aufwiesen und deren klinisches Allgemeinbefinden als ungestört beurteilt wurde. Es handelte sich bei allen Pferden um Schimmel unterschiedlicher Rassen im Alter von 3 bis 22 Jahren.

Die Pferde wurden, initial vier Mal im Abstand von 14 Tagen, über ein nadelfreies Injektionssystem (VetJet®) in die Pektoralisregion geimpft. Im Anschluss wurde den Besitzern eine halbjährliche Wiederholungsimpfung empfohlen. Zur Kontrolle des Therapieerfolgs wurden Schublenmessungen der Melanome durchgeführt. Der Beobachtungszeitraum der individuellen Patienten betrug 28 bis 855 Tage.

Über den Beobachtungszeitraum wiesen die Melanome der behandelten Pferde kein signifikantes Tumorwachstum auf. Weitere Studien über die längerfristige Wirksamkeit der therapeutischen Impfung sollten durchgeführt werden. Anhand der bisherigen Ergebnisse kann die Impfung, mit dem Ziel der Tumorstagnation, empfohlen werden.

Literatur

Die Literatur ist bei der Verfasserin erhältlich.

Kontakt

Prof. Dr. Jessika-M. Cavalleri, Veterinärmedizinische Universität Wien (Vetmeduni Vienna), Leitung der klinischen Abteilung für Interne Medizin Pferde, Equine University Clinic
jessika.cavalleri@vetmeduni.ac.at

Hauterkrankungen der distalen Gliedmaßen

Marianne M. Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan

Departement of Clinical Sciences, Utrecht, Niederlande

Einleitung

Die im Deutschen als Mauke bezeichneten Dermatosen der distalen Gliedmaße, sind in der englischen Umgangssprache mit vielen Namen belegt: scratches, cracked heels, grease heel, dew poisoning, mud rash und mud fever. Diese Namen definieren keine spezifischen Krankheiten, sondern kennzeichnen vielmehr ein allgemeines Reaktionsmuster der Pferdehaut, das viele mögliche Ursachen hat. Dermatosen der distalen Gliedmaße treten beim Pferd häufig auf und bereiten dem Besitzer wegen ihrer Auswirkungen auf das Erscheinungsbild oder Wohlbefinden des Pferdes oft Sorge. Die verschiedenen Ausprägungen werden in der Veterinärmedizin zusammengefasst als Mauke (equine pastern dermatitis) bezeichnet, wobei dieser Begriff nur einen Teil der Dermatosen der distalen Gliedmaße beim Pferd umfasst. Das Ergebnis der klinischen Untersuchung und Labortests, zusammen mit einer umfassenden Kenntnis, der in der Region verbreiteten Hauterkrankungen, sollte eine ausreichende Basis zur Diagnose der meisten Probleme darstellen. Die Diagnose kann durch die Anwendung topischer „Hausmittel“ kompliziert werden, die das Erscheinungsbild der Läsion(en) verändern können.

Hautprobleme

Hautprobleme der distalen Gliedmaße sind:

- Epitheliogenesis imperfecta
- Equines Sarkoid
- Equine Sarkoidose
- Chorioptesräude
- Photodermatitis
- Fesselvaskulitis
- Chronisches progressives Lymphödem

Epitheliogenesis imperfecta

Die Epitheliogenesis imperfecta ist ein erbliches, angeborenes, einfach autosomal rezessives Merkmal, das eine unvollständige Hautbildung beim Fohlen verursacht. Die Krankheit ist durch das abrupte Fehlen des Epithels in bestimmten Bereichen, am häufigsten an den Gliedmaßen, charakterisiert.

Equines Sarkoid

Sarkoide treten bei allen Rassen und in jedem Alter auf und stellen bei weitem den häufigsten Hauttumor des Pferdes dar. Häufig treten multiple Tumore am ganzen Körper auf, meist sind sie jedoch an Stellen lokalisiert, an denen die Haut dünn und wenig behaart ist, wo sich Fliegen ungestört aufhalten und stärkere Schweißbildung zu verzeichnen ist. Die häufigsten Lokalisationen – zumindest in Europa – sind daher die Leiste, Achsel, Kopf, Ohr und Augenlid. Das equine Sarkoid ist ein fibro-epithelialer Tumor mit unterschiedlichen klinischen Manifestationen, je nachdem ob die mesenchymale oder die epitheliale Komponente im Vordergrund steht. Neuere Daten belegen, dass die epithelialen Störungen, die für manche Formen der Erkrankung typisch sind, sekundär infolge einer Ausschüttung von Wachstumsfaktoren durch die transformierten Fibroblasten entstehen

könnten, die die Hauptkomponente dieses Tumortyps darstellen. Derzeit werden sechs Typen des equinen Sarkoids unterschieden:

- Okkultes Sarkoid
- Verruköses Sarkoid
- Noduläres Sarkoid
- Fibroblastisches Sarkoid
- Gemischtes Sarkoid
- Malignes Sarkoid (Male volentes)



Abb.: Leukozytoklastische Unterbeindermatitis bei einer Warmblutstute

Equine Sarkoidose

Die equine Sarkoidose wird als eine systemische Erkrankung beschrieben, die mit exfoliativer Dermatitis, starker Auszehrung und einer sarkoidalen granulomatösen Entzündung multipler Organsysteme einhergeht (Scott 1988). Allerdings haben wir in Utrecht mehrere Fälle von Sarkoidose-ähnlicher Dermatitis an nur einer oder zwei distalen Gliedmaßen, pigmentiert oder unpigmentiert, gesehen. Die Erkrankung beginnt mit Schuppen- und Krustenbildung sowie Ausdünnen des Haarkleides am betroffenen Bein. Die Pferde zeigen keine Allgemeinsymptome, das Leistungsvermögen kann unbeeinträchtigt sein. Wenn nicht behandelt wird, verschlechtert sich die Dermatitis, und die Krusten werden stärker. Dann wird das Pferd häufig lahm. Die Diagnose wird histopathologisch an einer Hautbiopsie bestätigt. Die Prognose für eine vollständige Heilung ist schlecht, die Pferde bleiben jedoch oft für den Freizeitsport tauglich, wenn sie initial für 2–3 Wochen mit hochdosierten Kortikosteroiden (z. B. Dexamethason 0,04–0,08 mg / kg einmal täglich i. m. oder i. v.) und im Anschluss dauerhaft mit einem niedrig dosierten systemischen Kortikosteroid (Prednisolon 0,25 –1,0 mg / kg oral einmal täglich) behandelt werden. Da die Haut sehr anfällig und empfindlich ist, sollte keine lokale Behandlung erfolgen.

Chorioptesräude

Beim Pferd wird die Chorioptesräude durch *Chorioptes equi* (Nagemilbe) verursacht. Die Milben leben auf der Hautoberfläche und ernähren sich von Hautschuppen. *Chorioptes equi* ist an seinen langen Prätarsen auf kurzen Stielen zu erkennen.

Die Chorioptesräude wird nicht zwischen verschiedenen Spezies übertragen und ist nicht humanpathogen. Sie tritt meist im Winter bei Pferden mit langem Fesselbehang auf und wird durch direkten und indirekten Kontakt übertragen. Die Erkrankung kann durch Carrier-Pferde, die selbst nicht erkranken, von Saison zu Saison verschleppt werden.

Die klinischen Erscheinungen sind für gewöhnlich auf die distalen Gliedmaßen beschränkt und bestehen in Schuppenbildung und knötchenartigem Hautausschlag. Bei schweren Infestationen kann auch der gesamte Körper betroffen sein, was zu generalisiertem Juckreiz, Unruhe und sogar Gewichtsverlust führen kann. Manchmal stampfen die Pferde aufgrund der Reizung mit den Beinen. In schwereren Fällen nutzen die Pferde jede Gelegenheit, sich zu scheuern und die Gliedmaßen zu benagen.

Es empfiehlt sich, langes Fell vor der Behandlung sorgfältig zu kürzen. Allerdings wird der Besitzer dem oft nicht zustimmen, da es mindestens zwei Jahre dauert, bevor lange Fesselbehänge ausreichend nachgewachsen sind, um das Pferd wieder zu präsentieren. Die Gliedmaßen sollten gründlich gewaschen und alle Verschorfungen beseitigt werden. Im Anschluss sind lokale Bäder mit Medikamenten, die gegen Ektoparasiten wirksam sind, das Mittel der Wahl. In den letzten Jahren ist die Zahl der effektiven Behandlungsmöglichkeiten gegen Milben und Läuse deutlich zurückgegangen. Foxim (ein Cholinesterasehemmer, Sebacil®), Diazinon (Neocidol®) und Fipronil sind oft noch erhältlich. Da die Larven nach 10 –14 Tagen schlüpfen, muss die Behandlung nach 14 Tagen wiederholt werden.

Das ganze Pferd sollte gewaschen werden! Wichtig ist ferner das Einsprühen oder Waschen des gesamten Zaum- und Sattelzeugs und der sonstigen Ausrüstung des Pferdes sowie die Reinigung und Desinfektion der Box oder anderweitigen Unterbringung.



Abb.: Chronisch progressives Lymphödem (CPL) bei einem 11-jährige Friesse Wallach

Photodermatitis

Alle Arten von Photosensibilität haben drei Dinge gemeinsam: die Anwesenheit einer photodynamischen Substanz in der Haut, die Einwirkung von UV-Licht und die Hautabsorption von UV-Licht, die durch das Fehlen von Pigment und Haarkleid stark erleichtert wird. Eine Photodermatitis ist kein einfacher Sonnenbrand. Die Photodermatitis wird normalerweise anhand der Ursache für das photodynamische Agens klassifiziert. Beim Pferd treten auf:

- Primäre Photosensibilisierung, bei der ein fertiges oder metabolisch erzeugtes photodynamisches Agens durch Nahrungsaufnahme, Injektion oder Kontakt in die Haut gelangt
- Hepatogene Photosensibilisierung mit überschüssigem zirkulierenden Phylloerythrin infolge einer fortgeschrittenen Lebererkrankung
- Idiopathische Photosensibilisierung (mit unsicherer oder ungeklärter Ätiologie).

Fesselvaskulitis

Manchmal bleibt die equine kutane Vaskulitis auf unpigmentierte, weiß behaarte Bereiche an Fessel oder Kopf beschränkt, sodass der Eindruck eines lichtinduzierten Prozesses entsteht. Dies wird als „leukozytoklastische Fesselvaskulitis“ oder „lichtanfällige Vaskulitis“ bezeichnet. Es handelt sich dabei um ein für das Pferd spezifisches klinisch-pathologisches Bild. Es ist relativ verbreitet und betrifft adulte Pferde beiderlei Geschlechts gleichermaßen. Die Schäden sind normalerweise auf die unpigmentierten distalen Gliedmaßen beschränkt, wobei medialer und lateraler Abschnitt der Fessel besonders betroffen sind. Die einzelnen Läsionen sind meist multipel und recht gut abgegrenzt, konfluieren aber manchmal und bilden dann schlechter definierte Areale. Anfänglich treten Erythem, Nässen, Verkrustung, Erosion und oberflächliche Ulzera auf, die von Ödembildung gefolgt sind. In chronischen Fällen zeigen die Läsionen eine raue, „warzig“ aussehende Oberfläche. Die Pathogenese ist unklar, es handelt sich aber vermutlich um eine Immunkomplex-Krankheit. Die in den meisten Fällen beobachtete Begrenzung auf unpigmentierte Stellen legt eine Beteiligung der UV-Strahlung bei der Pathogenese nahe, es liegt aber keine echte Photosensibilisierungskrankheit vor. Die Diagnose beruht auf der histologischen Untersuchung (Biopsie), die eine leukozytoklastische Vaskulitis, Gefäßwandnekrose und Thrombose unter Einbezug der kleinen Blutgefäße im Papillarkörper der Dermis ergibt. Leider sind die Gefäßveränderungen nicht einheitlich und auch nicht immer ausgedehnt, sodass sie leicht verfehlt oder übersehen werden können. Die klinische Behandlung besteht in oralen oder parenteralen Kortikosteroiden. Der betroffene Bereich kann durch sorgfältiges Bandagieren, oder schlicht durch Vermeidung von Sonneneinstrahlung, vor Licht geschützt werden. Eine neuere Studie ergab, dass die Krankheit möglicherweise nicht mit dem Sonnenlicht, sondern mit einem Kontakt mit Gras (direkt oder durch die Futteraufnahme?) in Zusammenhang stehen könnte.

Chronisch progressives Lymphödem

Die CPL ist eine im Fesselbereich beginnende und in chronischen Fällen bis zu den Karpal- und Tarsalgelenken ziehende hyperplastische Dermatitis (entzündliche Hauterkrankung mit warzenartigen Zubildungen, Schwellungen, Lymphödem, Beindeformation). Clydesdales, Friesen, Kaltblutpferderassen, Shire und Tinker sind oft betroffen. Die Kaltblutpferde erkranken relativ früh im Alter von 2-4 Jahren. Die CPL hat eine starke genetische Veranlagung für das Auftreten bei Kaltblutpferden. Die Ursache ist eine Degradation und Desorganisation des Elastins der Haut und des Perilymphraumes. Die Fibröse der Lymphgefäßwände und der Gefäßlappen führt zu einer verminderten Kontraktionsfähigkeit, zu einer Insuffizienz der Lymphgefäße und zu einer Lymphostase. Die Krankheit ist unheilbar. Die Warzenmauke neigt zu Rezidiven und tritt häufig gemeinsam mit Hufkrebs (Chronisch-proliferative Entzündung der Lederhaut; lat.: Pododermatitis

chronica verrucosa) auf. Leider steht da noch nicht ein DNA-Test zur Verfügung. Das ist keine richtige Therapie nur Unterstützung.

Hauterkrankungen - Fallvorstellungen und Diskussion

Corinna Arnold, Albrecht Uhlig, Katharina Lohmann

Klinik für Pferde, Universität Leipzig

Einleitung

Die Haut als äußerste Schutzschicht des Organismus und erste Barriere gegenüber exogenen Einflüssen erfüllt eine Vielzahl physiologischer Aufgaben. Neben der rein mechanischen Schutzwirkung und der Bewahrung vor unkontrollierter Flüssigkeitsaufnahme oder Flüssigkeitsverlusten des Körpers, ist auch die thermoregulatorische Funktion und die Rolle als größtes Sinnesorgan und Immunorgan von außerordentlicher Wichtigkeit. Im Folgenden sollen drei klinische Fälle ausgeprägter Hautläsionen verschiedener Genese vorgestellt werden.

Fall 1

Der erste Fall beschreibt einen 26-jährigen Haflinger-Wallach der aufgrund kürzlich aufgetretenen generalisierten Pruritus¹, sowie ausgedehnten Haarausfalles vorgestellt wurde. Die klinische Untersuchung ergab eine generalisierte Alopezie im Bereich des Kopfes und weiten Teilen des Körpers insbesondere an Hals, Brust, Thorax, Kruppe und Oberschenkeln; Schweifrübe und Mähnenkamm waren ebenfalls betroffen und zeigten kurze, abgebrochene Haare sowie blutige Krusten. Die Hautoberfläche präsentierte sich trocken und schuppig. An Kopf, Gliedmaßen und Schweifrübe fanden sich Exkorationen, die Ohrmuscheln waren umfangsvermehrt und derb, die Vordergliedmaßen zeigten Krusten im Bereich der Fesselbeugen und waren distal ödematös, darüber hinaus war ein Unterbrustödem vorhanden, die Haut erschien insgesamt in weiten Teilen derb verdickt, stellenweise waren umschriebene Knoten in der Haut palpierbar. Weiterhin fielen gerötete Konjunktiven auf, die Oberlider wiesen infolge Traumata im Kopfbereich multiple Exkorationen auf und waren deutlich angeschwollen. Die Herzfrequenz war mit 64 Schlägen pro Minute und die innere Körpertemperatur mit 38,5 °C erhöht. Das diagnostische Vorgehen umfasste neben labormedizinischen Blutuntersuchungen auch Hautgeschabsel und Hautbiopsate. Die parasitologische und mykologische Untersuchung von Hautgeschabseln und Haarproben verlief negativ. Histopathologisch konnte am Hautbiopsat die Diagnose einer allergischen Dermatitis gestellt werden. Aufgrund des Vorberichtes war am ehesten von einer Kontaktallergie auszugehen. Die Behandlung umfasste Prednisolon (1 mg/kg einmal täglich per os) und die Empfehlung zum Sonnenschutz der unbehaarten Haut. In der Folge heilten die Veränderungen vollständig ab.

Fall 2

Der zweite klinische Fall behandelt einen 14-jährigen Warmblut-Wallach, welcher aufgrund von nässenden Hautveränderungen begleitet von Pruritus und Gewichtsverlust vorgestellt wurde. Im Rahmen der klinischen Untersuchung zeigte das Pferd diffus über den Körper, einschließlich Kopf, Lippen und Nüstern, verteilte krustöse, teils nässende und teils abgetrocknete Hautveränderungen. Die Krusten waren nur unter Substanzverlust ablösbar und hinterließen blutige, stellenweise auch purulente Hautareale. Außerdem fielen ein mäßiger bis schlechter Ernährungszustand sowie ein entzündliches Ödem aller vier Gliedmaßen auf. Durch die bakteriologische Untersuchung eines Hautgeschabsels konnte kulturell-massenspektrometrisch hochgradig *Staphylococcus hyicus* nachgewiesen werden; außerdem zeigte sich in der parasitologischen Untersuchung ein hochgradiger Haarlingsbefall. Die mykologische Untersuchung eines Hautgeschabsels verlief negativ, histopathologisch wurde eine oberflächliche gemischtzellige interstitielle Dermatitis mit Spaltenbildung am dermo-epithelialen Übergang sowie wenigen akantholytischen Keratinozyten

diagnostiziert. Als Auslöser für diese Veränderungen, insbesondere die epidermale Spaltenbildung, kamen evtl. die exfoliativen Toxine von *Staphylococcus hyicus* in Frage. Differenzialdiagnostisch wurde eine Autoimmunerkrankung aus dem Pemphiguskomplex in Betracht gezogen; dies erschien aufgrund des positiven Erregernachweises jedoch unwahrscheinlich. Die Behandlung erfolgte mit systemischen Antibiotika (Amoxicillin 10 mg/kg zweimal täglich intravenös) und nicht-steroidalen Antiphlogistika (Flunixin 1,1 mg/kg einmal täglich per os) und führte zur vollständigen Abheilung der vorhandenen Läsionen.

Fall 3

Bei dem dritten Fall handelt es sich um einen 10-jährigen Quarter Horse-Wallach der vorherichtlich, aufgrund einer akuten Atemwegserkrankung, mit Penicillin behandelt wurde und im weiteren Verlauf Gliedmaßen- und Unterbauchödeme entwickelte, sowie eine generalisierte Serumausschwitzung am ganzen Körper, ein reduziertes Allgemeinverhalten und Inappetenz zeigte. Nach erneuter Medikation mit Penicillin fiel der Wallach plötzlich durch eine generalisierte Alopezie des Körpers und der Gliedmaßen und erneute hochgradige Serumausschwitzung auf. Zum Zeitpunkt der klinischen Untersuchung bei Vorstellung fanden sich keine Ödeme mehr, allerdings war das äußere Erscheinungsbild von ausgedehnten haarlosen Bereichen sowie großflächigen angetrockneten Krusten geprägt. Verbliebene Haare waren leicht auszuzupfen, unter den abgelösten Krusten befand sich unveränderte Haut, die Palpation der Haut erschien jedoch sehr schmerzhaft. Labormedizinisch fand sich eine geringgradige Neutrophilie mit Linksverschiebung, eine geringgradige nicht-regenerative Anämie und eine leichte Hyperproteinämie mit Hyperglobulinämie. Die Untersuchung von Abklatschpräparaten der Haut ergab eine Besiedlung mit zahlreichen Bakterien entsprechend einer oberflächlichen Pyodermie. Histopathologisch fanden sich neben Entzündungszellinfiltraten der Dermis, auch zahlreiche akantholytische Keratinozyten in Krusten und Hautbiopsaten, was den Verdacht auf Pemphigus foliaceus fallen ließ. Differenzialdiagnostisch konnte eine akantholytische Dermatophytose, durch fehlenden histochemischen Nachweis erregerspezifischer Strukturen, ausgeschlossen werden. Der positive immunhistochemische Nachweis von Immunglobulin G epidermal interzellulär, wie auch in Bereichen dermal-epidermaler Separation, unterstützte die Diagnose eines Pemphigus foliaceus. Aufgrund des Vorberichtes erscheint ein arzneimittelinduzierter Pemphigus wahrscheinlich. Die Behandlung umfasste zunächst systemische Antibiotika (Ceftiofur 2 mg/kg zweimal täglich intravenös) bis zur Ausheilung der Pyodermie, zeitgleich wurden Glukokortikoide (Dexamethason 0,05 mg/kg einmal täglich zunächst intravenös später oral) verabreicht, diese Behandlung wurde in absteigender Dosierung über die stationäre Entlassung hinaus fortgesetzt. Zusätzlich erfolgte eine Substitution mit kaltgepresstem Leinöl über das Futter und regelmäßige Waschungen mit salicylsäure- und schwefelhaltigem Shampoo. Im weiteren Verlauf heilten die Hautveränderungen vollständig ab, einem weiteren Schub der Erkrankung, einige Monate später, konnte mit rechtzeitigem Wiedereinsetzen der Glukokortikoid-Therapie begegnet werden.

Kontakt

Dr. Corinna Arnold, Klinik für Pferde, Universität Leipzig, Leipzig
arnold@vetmed.uni-leipzig.de

Fortschritte in der Osteosynthese beim Pferd

Anton Fürst

Klinik für Pferdechirurgie, Vetsuisse Fakultät der Universität Zürich, Schweiz

Allgemeiner Teil

Vor über sechzig Jahren wurde die Arbeitsgemeinschaft für Osteosynthesefragen (AO) in der Schweiz gegründet. Das Ziel dieser Vereinigung von Orthopäden, Anatomen und Instrumentenbauern war es, verbesserte Materialien zu entwickeln und die Operationstechniken der Frakturen zu verbessern. Innerhalb kurzer Zeit wurden Schrauben und Platten produziert, die weltweit eingesetzt wurden. Im Jahr 1959 wurde mit Unterstützung der AO die AOVET gegründet. Auch hier stand die Entwicklung von neuen Implantaten für die Tiere im Zentrum. Nachdem diese für die Tierärzte verfügbar waren, wurden in weltweiten Kursen die Techniken der Implantation dieser Schrauben und Platten unterrichtet. Es waren vor allem zwei Schweizer Pferdechirurgen, die hier federführend waren, einerseits Prof. Björn von Salis und andererseits Prof. Jörg Auer. Die erfolgreiche Frakturbehandlung der Pferde ist von vielen Faktoren abhängig, wovon die Erste Hilfe, der Transport, die Bildgebung, die Narkose, die chirurgische Technik mit den verschiedenen Implantaten und die Aufstehtechniken die wichtigste Rolle spielen. Nachfolgend sollen Fortschritte, die diese Phasen betreffen, kurz beschrieben werden.

Erste Hilfe

In vielen Ländern haben sich in den letzten Jahren für Pferde spezialisierte Rettungsorganisationen entwickelt. Diese besitzen ein hervorragendes Training wie auch die entsprechenden Hilfsmittel für die korrekte Erste Hilfe wie auch den Transport der verletzten Pferde. In manchen Ländern haben diese Organisationen einen ähnlichen Standard wie die humanen Organisationen erreicht, so dass sie auch Spezialbewilligungen wie Blaulicht, Aktivierung über den allgemeinen Notfalldienst, Betreuung der Pferde am Unfallort und während des Transports erlangen konnten. Die von diesen Organisationen in die Klinik gebrachten Pferde zeigen sich in einem viel besseren Allgemeinzustand, was auch einen erheblichen Einfluss auf den Operationserfolg hat.



Abb. 1

Bildgebung

Die Fortschritte in der Bildgebung haben einen sehr grossen Einfluss auf die Orthopädie. Während früher der genaue Frakturverlauf aufgrund der Röntgenuntersuchung nur erahnt werden konnte, erhalten wir heute vor allem von den CT- und MRT- Studien präzise Angaben zum Frakturverlauf, was die Planung um ein Vielfaches erleichtert und die Prognose auch deutlich

verbessert hat. Die Entwicklung bei der Bildgebung für die Pferde ist immer noch nicht abgeschlossen und aktuell werden einige Computertomographen entwickelt, die selbst die Untersuchung der Gliedmassen am stehenden Pferd erlauben.

Die Bildgebung hat nicht nur die Diagnostik der orthopädischen Probleme massiv verbessert, sondern sie werden vermehrt auch intraoperativ als Unterstützung bei den verschiedenen chirurgischen Eingriffen eingesetzt. Damit können verschiedene Schrauben und Platten gezielter und auch ohne große Zugänge eingesetzt werden. Neben der direkten Radiographie und den verbesserten C-Bögen sind dies vor allem die CT-navigierten Operationen und auch die Computer assistierte Chirurgie. (Abb. 1)

Sedation und Narkose

Sichere Sedativa erlauben heute die erfolgreiche Operation von vielen Fissuren und Frakturen am stehenden Pferd. Auch verbesserte Narkosetechniken ermöglichen selbst sehr komplizierte und mehrere Stunden dauernde Operationen.

Chirurgische Techniken

Die Dynamische Kompressionsplatte (DCP) wurde in der Veterinärmedizin ähnlich wie in der Humanorthopädie während vielen Jahrzehnten sehr erfolgreich eingesetzt. Weil diese einige kleine Schwachstellen aufwies, wurde diese in den letzten Jahren durch die Verriegelungsplatte (Locking Compression Plate = LCP) ersetzt. Diese weist zwei große Vorteile auf: einerseits liegt sie nicht mehr flächenhaft auf dem Knochen auf, so dass die Blutversorgung weniger beeinträchtigt wird und andererseits werden die Schraubenköpfe in der Platte selber auch fixiert resp. verriegelt. Dieses System wurde kurz nach der Entwicklung von vielen Plattenherstellern in leicht modifizierter Form kopiert, so dass es heute auch sehr viele verschiedene Platten mit einer ähnlichen Funktion gibt. Weil diese Verriegelungsplatten besondere Schraubenlöcher, die sogenannten Kombinationslöcher besitzt, können sowohl Schrauben mit und ohne einer Verriegelung verwendet werden. Während die ersten Verriegelungsplatten nur den Einsatz der Schrauben im 90 Grad Winkel zur Platte erlaubten, werden heute Verriegelungssysteme produziert, die den Einsatz von Verriegelungsschrauben in verschiedenen Winkeln erlauben. Diese Systeme werden als Variable Angle (VA LCP) bezeichnet. Während diese Systeme in der Humanosteosynthese bereits weit verbreitet sind, fehlen hier noch die Implantate, die speziell für die Pferde entwickelt wurden. Aufgrund der vielen Vorteile dieser LCP werden heute nahezu alle Implantate als Verriegelungssysteme produziert.

In den letzten Jahren wurden einige Implantate speziell für das Pferd entwickelt. Einerseits wurden besonders starke und lange Platten für die Pferde produziert und andererseits wurden Platten entsprechend der Konfiguration der Pferdeknochen entwickelt. Im Besonderen sollen die Proximale Interphalangeale Platte (PIP), die T-Platte wie auch gewisse Implantate für den Hals als auch verschiedene Pins erwähnt werden. Diese konnten die Prognose von einigen Operationen verbessern, weil sie speziell für bestimmte Knochenkonfigurationen entwickelt wurden. So ist die Form der PIP wie auch die Anordnung der Schraubenlöcher optimal dem Krongelenk angepasst worden. Obwohl die T Platte für eine spezifische Fraktur entwickelt wurde, wird sie heute für viele Indikationen eingesetzt, weil sie einige große Vorteile besitzt. Diese Platte ist in verschiedenen Längen erhältlich, als 4-, 6-, 8- und 10 Lochplatte. Diese Platte erweist sich vor allem für Frakturen, bei denen das eine Fragment sehr kurz ist von großem Vorteil, als Beispiel sollen die distalen Röhrenbein- und Radiusfrakturen erwähnt werden. Aktuell werden auch Implantate für den Hals entwickelt, die die Arthrodese von Halswirbeln verbessern sollten. Neben den besonderen Entwicklungen für das Pferd, wurden in der Vergangenheit auch Platten, die für bestimmte humane Knochen entwickelt wurden, für andere Pferdeknochen eingesetzt. So zeigte sich, dass die distale Femurplatte (Abb. 2) eine hervorragende Konfiguration für die Skapula oder den distalen Radius

beim Pferd besitzt. Auch konnten damit Trümmerfrakturen des Fesselbeins erfolgreich operiert werden. Seit einigen Jahren werden auch Implantate für die intramedulläre Fixation von Frakturen produziert. Diese werden als Interlocking Nails bezeichnet, weil diese intramedullären Pins resp. Nägel mit zusätzlichen Schrauben am Knochen fixiert werden.

Neben den Implantaten hat sich auch die Operationstechnik in den letzten Jahren geändert. Während früher der offene Zugang mit der perfekten anatomischen Rekonstruktion im Zentrum der Osteosynthese stand, werden heute einige Operationen ohne großen Zugang durchgeführt. Man bezeichnet diese Operationstechnik als Minimalinvasive Osteosynthese (MIO). Dabei können die Weichteile wesentlich besser geschont und erhalten werden, was das Infektionsrisiko deutlich vermindert.

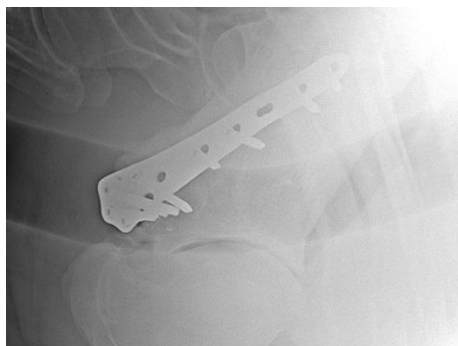


Abb. 2

Die Aufstehphase

Nach wie vor stellt die Narkose ein erhöhtes Risiko für die chirurgischen Eingriffe beim Pferd dar. Im Besonderen ist es die Aufstehphase nach der Operation, die nur bis zu einem gewissen Grad kontrolliert werden kann. Eine große Verbesserung stellt der Pool dar, der heute in einigen Kliniken verwendet wird und die Belastung der Knochen bei der Aufstehphase deutlich reduziert hat. Weil aber die Installationen recht aufwändig sind, hat der Pool nur in einzelnen Kliniken Einzug gehalten. So wurden in der Vergangenheit auch die verschiedenen Aufstehhilfen modifiziert.

Weiterführende Literatur

1. Fürst A, Keller R, Kummer M, et al. Evaluation of a new full-body animal rescue and transportation sling in horses: 181 horses (1998-2006). *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 2008;18:619-625.
2. Jackson MA, Ohlerth S, Fürst AE. Use of an aiming device and computed tomography for assisted debridement of subchondral cystic lesions in the limbs of horses. *Vet Surg* 2019;48:O15-O24.
3. Schön S, Fürst AE, Ohlerth S, et al. Computed tomographic versus radiographic assessment of the visibility and features of subchondral cystic lesions in equine limbs. *Pferdeheilkunde* 2017;33:256-262.

Kontakt

Prof. Dr. Anton Fürst, Klinik für Pferdechirurgie der Vetsuisse Fakultät der Universität Zürich
afuerst@vetclinics.uzh.ch

Neues System für die intramedulläre Osteosynthese beim Pferd

Dirk Barnewitz¹, Jan J. Lang^{2,3}, Werner Hauer⁴

¹Tierärztliche Klinik der fzmb GmbH, Bad Langensalza; ²Technische Universität München, Fakultät für Medizin, Klinik für Orthopädie und Sportorthopädie, München; ³Technische Universität München, Fakultät für Maschinenwesen, Lehrstuhl für zerstörungsfreie Prüfung, München; ⁴Sana Klinik Pegnitz

In Zusammenarbeit mit der Firma Königsee Implantate GmbH, dem Klinikum rechts der Isar (TU München), der Pferdeklinik Havelland, der Klinik für Pferde der FU Berlin, dem ICM – Institut Chemnitzer Maschinen- und Anlagenbau e.V. und der Tierärztlichen Klinik des Forschungszentrums für Medizintechnik und Biotechnologie (fzmb GmbH) wurde im Zeitraum 01.08.2016 bis 31.07.2019 ein Projekt bearbeitet mit dem Ziel, eine praxistaugliche Möglichkeit zur intramedullären Osteosynthese bei Frakturen des Femurs von Pferden zu entwickeln. Eine Femurfraktur tritt vor allem nach Stürzen oder Fehltritten auf. Die Tatsache, dass diese Fraktur am häufigsten eine Euthanasie zur Folge hat (1), motivierte zur Durchführung dieses Projektes. Aus der Literatur ist bekannt, dass proximale Frakturen des Femurkopfes und Halses nahezu ausschließlich beim Fohlen vorkommen (2). Im Bereich des Femurschaftes kommen in aller Regel Spiralfrakturen, einfache Trümmerfrakturen mit einem Butterfly-Fragment oder komplizierte Trümmerfrakturen mit mehreren Fragmenten vor. Ein Viertel aller Fohlen mit Frakturen der langen Röhrenknochen haben Diaphysenfrakturen des Femurs

(3). Distale Epiphysenfugenfrakturen kommen häufig bei Jährlingen vor und sind meistens vom Salter-Harris Typ II, wobei vereinzelt auch Frakturen vom Salter-Harris Typ III & IV auftreten (4).

An Kadaverknochen bzw. an aus medizinischen Gründen frisch euthanasierten Pferden wurden Untersuchungen zur Korrelation zwischen einwirkender Kraft, Markraumgröße und Implantatgeometrie durchgeführt. Weiterhin wurde neben einer Zielbügeltechnik, insbesondere für die distale Fixierung, eine sensorbasierte Fixationstechnik entwickelt. Bei den Belastungsuntersuchungen konnte festgestellt werden, dass bei einer Dreipunktbelastung des Femurs eines adulten Warmblutpferdes eine Kraft von 2,4 Tonnen notwendig sind, um eine Fraktur herbei zu führen. Eine mit der entwickelten Methode optimal versorgte Femurfraktur im Schaftbereich hält einer Belastung von 1,8 Tonnen stand. Weiterhin zeigte sich, dass bei einer 4-Punktbiegebelastung des Femurs eines adulten Warmblutpferdes in cranial-caudaler Richtung eine Kraft von mehr als 2,0 Tonnen (407 Nm; n=1) notwendig ist, um eine Fraktur herbei zu führen. Eine mit der entwickelten Methode optimal versorgte Femurfraktur im Schaftbereich hält einer durchschnittlichen Belastung von 1,4 Tonnen (279 Nm, n=3) stand. Dafür wurden diaphysäre Schrägfrakturen mittels oszillierender Säge am Knochenpräparat artifiziell hergestellt. Weiterhin wurde in dieser Prüfungsart für den intakten Femur eine Biegesteifigkeit von 3,3 Nm² (n=5) ermittelt. Der mit verriegeltem Marknagel versorgte Knochen erreichte im Zuge der gleichen Prüfung eine Biegesteifigkeit von 1,5 Nm² (n=6). Diese Ergebnisse lassen sich gut mit den Erkenntnissen von Radcliffe et al in einer ähnlichen Studie unter Annahme ähnlicher Querschnitte vereinen (intakt: 3,2 Nm²; Marknagelosteosynthese: 1,0 Nm²) (5).

Der Marknagel verfügt im distalen Bereich über eine Strukturierung, die dem Konstrukt aus Implantat und Knochen zusätzliche Stabilität bei tordierender Belastung verleiht. Die Geometrie der Marknagelspitze bildet beim Einbringen des Implantats einen Formschluss mit der Spongiosa des distalen Femurs und wirkt somit einer Rotation entgegen. Die Ergebnisse der Untersuchung zeigen, dass eine geeignete Strukturierung des distalen Nagels zu einer Erhöhung des maximalen Torsionsmoments von bis zu 22 % im Vergleich zum unstrukturierten Marknagel führt. Aus den

Ergebnissen lässt sich ableiten, dass eine große Kontaktfläche und großvolumige Kavitäten in der zirkulären Struktur einen positiven Effekt mitbringen.

Die für die Rotationsstabilität essenzielle Verankerung des implantierten Nagels erfolgte unter Zuhilfenahme eines Zielbügels. Allerdings zeigte sich, wie in der Humanmedizin, dass es schwierig ist, die distalen Bohrlöcher des Nagels mit Hilfe des Zielbügels sicher zu fixieren.

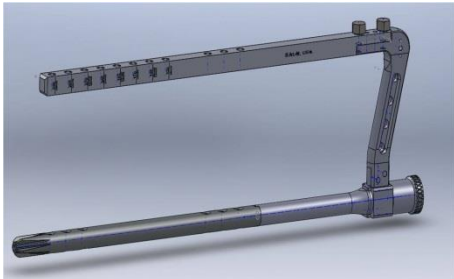


Abb. 1: 3D-Darstellung des Nagel-Zielbügel-Systems



Abb. 2: Nagel mit aufschraubbarer Einschlaghilfe und Repositionsstange

Für die Abmessung in der Pferdemedizin konnte hierbei ein neu entwickeltes bildschirmgeführtes Navigationssystem des ICM e.V., bestehend aus zwei sich gegenseitig sichtenden Kamera-Marker-Modulen und einem Zielsystem, genutzt werden (6). Das Zielsystem ermittelt mit Hilfe einer minimalen Anzahl radiologischer Aufnahmen die Verbiegung am distalen Nagelende. Aus diesen werden anschließend die Positionsdaten der Verriegelungslöcher errechnet. Durch den Einsatz des Kamera-Marker-Systems, welches zum einen an der Bohrmaschine und zum anderen an der Nageleinschlaghilfe montiert ist, können die kontinuierlichen Positionsdaten der Bohrmaschine mit Bohrer gegenüber dem distalen Verriegelungsloch auf einem Monitor dargestellt werden. Dies ermöglicht dem Operateur ein kontrolliertes und zugleich zielgenaues Bohren. Zusätzlich existiert eine Zielbügelmethode, die insbesondere für die Verriegelung der proximalen Bohrlöcher des Nagels Anwendung findet.

Der proximale Zugang ist gewebeschonend zu erreichen und befindet sich ca. 5 cm medial der Incisura trochanterica ossis femoris. Für die distalen Frakturen bietet sich ein Zugang über die Fossa intercondylaris in Anlehnung an etablierte Methoden der Humanmedizin an. Die Reposition von Frakturen der großen Röhrenknochen stellt eine Herausforderung dar. In diesem System unterstützt eine 150 cm lange, auf den Nagel aufschraubbare Stange die Reposition der Fraktur.

Literatur

1. Hug S. Epidemiologische Untersuchungen der Frakturpatienten der Pferdeklinik: Bedeutung der Schlagverletzung als Ursache von Frakturen [Dissertation]. Zürich: Universität Zürich; 2009.
2. Turner AS, Milne DW, Hohn RB, Rouse GP. Surgical repair of fractured capital femoral epiphysis in three foals. J Am Vet Med Assoc. 1979; 175(11):1198-1202.

3. Hance SR, Bramlage LR, Schneider RK, Embertson RM. Retrospective study of 38 cases of femur fractures in horses less than one year of age. *Equine Vet J.* 1992; 24(5): 357-63.
4. Byron CR, Stick JA, Brown JA, Lugo J. Use of a condylar screw plate for repair of a Salter-Harris type-III fracture of the femur in a 2-year-old horse. *J Am Vet Med Assoc.* 2002; 221(9): 1292-5.
5. Radcliffe RM, Lopez MJ, Turner TA, Watkins JP, Radcliffe CH, Markel MD. An in vitro biomechanical comparison of interlocking nail constructs and double plating for fixation of diaphyseal femur fractures in immature horses. *Vet Sur.* 2001; 30(2):179-90.
6. Walther S, Grundmann A, Biedermann J, Wutzler J. Process improvement of locking intramedullary nails, *Biomed Eng Biomed Tech.* 2017; 62(s1): 277.

Kontakt

Dr. Dirk Barnewitz, Tierärztliche Klinik der fzmb GmbH, Bad Langensalza
dbarnewitz@fzmb.de

Desmotomie des Unterstützungsbandes zur Tiefen Beugesehne - Indikationen, Operationstechnik und klinische Ergebnisse

André Kleinpeter

Tierklinik Alt Sammit, Alt Sammit

Beugefehlstellungen des Hufgelenks können bei Fohlen mit der Geburt vorhanden sein. In anderen Fällen entwickeln sie sich im Laufe der ersten Lebensmonate, es handelt sich dann um eine erworbene Fehlstellung.

Die angeborene Variante zeigt sich in den meisten Fällen als eine Steilstellung der gesamten distalen Gliedmaße mit Zehenspitzenfußung. Sie kann in Vergesellschaftung mit Kontrakturen weiterer Gelenke derselben Gliedmaße auftreten. Bei einigen dieser Fohlen fällt ein verminderter Tonus der Streckmuskulatur auf. Eine Fixierung der gestreckten Stellung ist nur schwer möglich. Ein Teil dieser Patienten erlangt innerhalb von kurzer Zeit eine Verbesserung. Bei einem anderen Teil führt diese Situation zu Halteverlust der distalen Gliedmaße mit einer Ruptur des gemeinsamen Zehenstreckers (1). Eine initiale neuromuskuläre Unreife/Dysfunktion könnte dabei eine Rolle spielen. Bei Patienten mit angeborener Kontraktur zeigt sich eine frühe konservative Therapie oft erfolgversprechend.

Die erworbenen Beugefehlstellungen entwickeln sich im Laufe der ersten Lebensmonate. Grundsätzlich führt eine Minderbelastung der Gliedmaße aus verschiedenen Gründen am wachsenden Pferd zu einer Verkürzung der Sehnen-Muskel-Einheit im Verhältnis zu den knöchernen Strukturen (1,2). Schmerz ist hier als ein Schlüsselmoment zu sehen. Beugefehlstellungen können in diesem Zusammenhang durch verschiedene orthopädische Pathologien hervorgerufen werden.

Im Verlauf der Entwicklung des Sehnenstelzfußes führt der hohe Druck auf den Zehenbereich zu Quetschungen der Lederhaut, Separation der Hornwand und Umbauvorgängen des Hufbeins in dem Bereich. Dazu stellt sich zusätzlich ein zunehmend erhöhter Zug der tiefen Beugesehne ein.

Die reflektorische Verkürzung der Sehnen-Muskel-Einheit der tiefen Beugesehne und das weitere Längenwachstum der distalen Knochen führt zu einer absoluten Verkürzung der tiefen Beugesehne. Die erhöhte Spannung dieser in der Fußungsphase führt wiederum zu Schmerz. Diese schmerzassoziierten Vorgänge führen zu einer Progression der veränderten Gliedmaßenkonformation und zu ihrer Manifestation.

Erst mit Abschluss des Längenwachstums der distalen Gliedmaße entwickelt sich ein Bockhuf in unterschiedlicher Ausprägung. Dieser ist als Anpassung an die mehr oder weniger gebeugte Zehenachse (Beugung im Hufgelenk) zu sehen.

Besteht in der frühen Phase des Auftretens eine Möglichkeit der Unterbrechung des schmerzinduzierten Voranschreitens, sind konservative Behandlungen erfolgversprechend. Das Zeitfenster dafür erscheint sehr kurz. Ist eine kurzfristige Normalisierung nicht möglich, ist mit einer veränderten Gliedmaßenkonformation in der weiteren Entwicklung zu rechnen. Die Bandbreite der Ausprägung ist dabei variabel.

Diagnostisch eignet sich neben der klinischen Beurteilung und der Überprüfung ätiologischer Punkte bezüglich verschiedener Primärerkrankungen (z.B. Epiphysitis und andere Lahmheitsursachen, Futterrationsimbalancen etc.) vor allem die röntgenologische Untersuchung. Hier lässt sich in der 90°-Darstellung die Zehenachse bestimmen. Veränderungen am Hufbein lassen sich in der 90°- sowie in der Oxspringprojektion beurteilen. Die 0°-Darstellung lässt eine Beurteilung der Epiphysenfugen zu.

Grundsätzlich ist eine röntgenologische Untersuchung vor allem im Zusammenhang mit einer klinisch manifesten Lahmheit unbedingt erforderlich.

Die Beurteilung der Zehenachse ist als Hilfe zur Operationsentscheidung besonders geeignet.

Konsequenzen einer veränderten Hufkonformation bei der Entwicklung eines kleinen, engen und steilen Hufes/eines Bockhufes sind für die knöchernen Strukturen, Sehnen, Bänder und die daraus resultierenden Kräfteverhältnisse in der distalen Zehe umfangreich und leistungsbeeinflussend (3).

Die Chirurgie erfolgt grundsätzlich nach dem allgemein beschriebenen Prinzip (2), jedoch in der Zugangsgröße deutlich minimiert. Die Operation wird in Allgemeinanästhesie mit einem Zugang von lateral durchführt. Dazu wird ein longitudinaler Hautschnitt ca. 3 cm unterhalb der Art. carpometacarpea über dem Bereich des Unterstützungsbandes (UstB) angelegt. Die Größe des Hautschnitts beträgt ungefähr 1cm. Die darunter sichtbare laterale Metakarpalfaszie wird ebenfalls in Längsrichtung 1cm durchtrennt.

Das dorsal des UstB gelegene Gefäßbündel wird mit der Metzenbaumschere nach dorsal präpariert, anschließend erfolgt eine Präparation des UstB an der dorsalen Seite (Kontaktfläche zum M. interosseus medius = MIM). Mit dem Zeigefinger wird die korrekte Trennung kontrolliert. Danach erfolgt die Eröffnung des distolateralen Endes der Karpalbeugesehnnenscheide zwischen UstB und tiefer Beugesehne (TBS). Dadurch wird palmar des UstB die TBS mit ihrer rundlichen Form und glänzenden Oberfläche sichtbar. Die manuelle Identifikation des MIM und die Sichtkontrolle der TBS sind als wichtige Identifikationsgrenzen zum sicheren Durchtrennen des UstB notwendig. Das UstB wird dann mittels zweier Mosquitoklemmen in den Wundbereich gezogen und dann sukzessive bis zur medialen Grenze durchtrennt. Auf eine vollständige Durchtrennung ist unbedingt zu achten. Eine Kontrolle dessen kann durch Streckung der distalen Gliedmaße erfolgen. Der Wundverschluss erfolgt durch eine fortlaufende Naht der Faszie mit 3-0 Monosyn (Fa. Braun, Melsungen) und zwei subkutanen Adaptationseinzelheften (3-0 Monosyn, Fa. Braun, Melsungen). Die Hautwunde wird durch Hautklammern verschlossen. Ein Schutzverband (Röhrenverband) wird angelegt.

Der Huf wird nach Bedarf bearbeitet. Dazu ist vor allem eine Reinigung bestehender lamellärer Hornwandseparationen im Zehenbereich vorzunehmen. Abhängig vom Grad der Kontraktur erfolgt eine dezente Kürzung der Trachten. In Fällen hochgradiger Hornwandveränderungen wird zusätzlich ein Hufverband zum Schutz angelegt.

Die Patienten erhalten postoperativ für 2-3 Tage eine antiphlogistische Medikation. Ein Schutzverband wird über 3 Wochen mit entsprechenden Verbandwechseln verwendet.

Das Fohlen erhält in der postoperativen Phase Kleinkoppelgang für ca. 4 Wochen. Auf Ganztagskoppel und große Herdenhaltung ist zu verzichten. Im Falle einer bestehenden Epiphysitis erfolgt eine Futterrationskontrolle und eine erweiterte individuelle Bewegungskontrolle.

In Abhängigkeit von der Hornwandschädigung sowie der Bodenbeschaffenheit im Heimatstall wird Hornschutz unterschiedlichsten Materials verwendet. In der Regel ist jedoch außer einer regelmäßigen dezenten Angleichung der Trachten keine weitere Hufbehandlung notwendig.

Die Ergebnisse zeigen, dass über einen Zeitraum bis in die adulte Lebensphase der Patienten eine klinisch korrekte Darstellung der Hufkonformation erreicht wird.

Röntgenologisch lassen sich die für einen kleinen, engen Huf bzw. für einen Bockhuf typischen Veränderungen wie Beugung im Hufgelenk, Randstrukturveränderungen des Hufbeins sowie Atrophie des Strahlbeins nicht feststellen.

Sonografisch stellt sich der Bereich der Tenotomiestelle mit einer verminderten, aber regelmäßigen Echogenität im Vergleich zum organären Sehengewebe des UstB der TBS dar.

Die untersuchten Pferde zeigen eine Verwendungsfähigkeit als Reitpferd in unterschiedlichsten Bereichen und Klassen.

Die ersten Ergebnisse dieser Untersuchung zeigen, dass nach rechtzeitigem Erkennen der Entwicklung einer Kontraktur der distalen Zehe und deren Korrektur durch eine Desmotomie des Unterstützungsbandes der tiefen Beugesehne in der Regel eine Normentwicklung der Knochenstrukturen der distalen Vordergliedmaße zu erreichen ist.

Dementsprechend zeigt sich auch bei den betroffenen Pferden eine sehr gute Funktionalität als Reitpferd.

Im Kontext der Kaufuntersuchung ist die Desmotomie des UstB der TBS mit einem sehr geringen Risiko bezüglich einer negativen Leistungsbeeinflussung verbunden.

Die kosmetischen Ergebnisse im Bereich der Operationswunde stellen sich mit einer offenen, aber minimalen Zugangstechnik ebenfalls als sehr gut dar.

So ist in der Summe der Ergebnisse eine klare Empfehlung für eine derartige Operation zu geben. Die Entscheidung dazu sollte zeitnah nach erfolgloser konservativer Therapie oder nach Rezidiven fallen.

Literatur

1. Hunt RJ: Flexural Limb Deformity in Foals. In: Ross MW, Dyson SJ, Herausgeber. *Diagnosis and Management of Lameness in the Horse*. St. Louis: Elsevier Saunders; 2003. S. 562-5.
2. Kidd JA: Flexural Limb Deformities. In: Auer JA, Stick JA, Herausgeber. *Equine Surgery*. 4. Aufl. St. Louis: Elsevier Saunders; 2012. S. 1221-39.
3. Carier S, Oosterlinck M, Martens A, Pille F. Treatment of acquired flexural deformity of the distal interphalangeal joint in the horse: a retrospective study of 51 cases. *Vlaams Diergeneeskd Tijdschr*. 2016;85(1):9-14.
4. Tracey A, McCure SR. Retrospective analysis of distal limb conformation and lameness in mature horses after desmotomy of the accessory ligament of the deep digital flexor tendon for management of a flexural deformity. *Equine vet Educ*. 2018;30(1):53-6.

Kontakt

André Kleinpeter, Tierklinik Alt Sammit, Alt Sammit
info@tierklinik-alt-sammit.de

Indikationen und Techniken von Arthrodesen beim Pferd

Christoph Lischer

Pferdeklinik, Freie Universität Berlin

Einleitung

Arthrodese (chirurgische Gelenkversteifung) ist ein lebenserhaltendes Verfahren, um bei einem Pferd einen schmerzarmen oder –freien Zustand zu erreichen. Indikationen sind vor allem hochgradig degenerative Gelenksveränderungen, Stabilisation eines Gelenkes nach Verlust des unterstützenden Weichteilgewebes, oder Behandlung von komplizierten Frakturen mit Gelenksbeteiligung.

Definitionen

Der medizinische Begriff *Ankylose* bezeichnet die spontane Versteifung eines Gelenkes, was in der Folge von hochgradigen Gelenkentzündungen mit schwerwiegenden Knorpelschäden auftreten kann. Beispiele dazu sind septische Arthritis oder Osteoarthritis der distalen Tarsalgelenke. Bei der *fibrösen Ankylose* sind die Gelenkkörper nur bindegewebig verwachsen, was Mikrobewegungen zulässt und schmerzhaft bleibt für das Pferd. Erst wenn die Gelenkkörper vollständig knöchern verbunden sind (= *knöcherne Ankylose*) ist das Gelenk unbeweglich und nicht mehr schmerzhaft. Falls dieser Prozeß durch iatrogene Zerstörung des Knorpels beschleunigt wird, zum Beispiel durch intraartikuläre Injektion von knorpeltoxischen Substanzen oder durch Laser, so spricht man auch von einer *forcierten Ankylose*.

Im Gegensatz dazu ist *Arthrodese* die Bezeichnung für eine operative vorgenommene Gelenkversteifung. Das Ziel dieses chirurgischen Eingriffes ist es möglichst viel Gelenkknorpel zu entfernen und durch geeignete Implantate eine stabile Verbindung zwischen den beiden Gelenkkörpern zu erreichen. Je besser das gelingt, umso schneller wird eine knöcherne Ankylose des Gelenkes erreicht.



Abb. 1: Teilarthrodese des Carpalgelenkes nach Fraktur des Os carpalum tertium bei einem Spanischen Zuchthengst



Abb. 2: Arthrodese des Fesselgelenkes mit einer dorsalen Platte und einer Zuggurtung bei einer Warmblutstute

Arthrodesen bei Gelenken mit großem Bewegungsumfang

Bei erfolgreicher Operation können die Gelenksschmerzen massiv zu reduziert werden, oft bleibt jedoch eine mechanische Lahmheit zurück. Diese Operation ist die einzige Möglichkeit, um Pferde mit hohem züchterischem Wert oder Liebhaberperde trotz schwerwiegenden Pathologien in einem Gelenk schmerzfrei am Leben zu erhalten.

Fesselgelenk

Niederbruch des Fesselträgers oder fortgeschrittene Arthrosen sind die häufigsten Indikationen für eine Fesselgelenksarthrodese. Komplikationen sind Laminitis, Infektion, Luxation des Krongelenkes. Prognose als Weidepferd beträgt ca. 60 % (Bramlage 1985; Carpenter *et al.* 2008a). Die Prognose ist jedoch deutlich besser bei Pferden, die wegen einer degenerativen Osteoarthritis operiert wurden (Chapmann *et al.* 2018).

Carpus

Arthrodesen der Carpalgelenke sind indiziert bei komplizierten Frakturen der Karpalknochen, Luxationen und Subluxationen sowie bei hochgradiger Osteoarthritis. Bei Teilarthrodesen bleibt ein gewisser Grad an Beweglichkeit erhalten und Pferde können sogar wieder geritten werden (Waselau *et al.* 2006). Vollständige Karpalarthrodese sind reserviert für Pferde, die maximal weidetauglich sein müssen (Bertone *et al.* 1989; Carpenter *et al.* 2008b). Die häufigsten Komplikationen wie Wundinfektion und Laminitis der kontrolateralen Gliedmasse konnten durch Verwendung von 3 Platten mit Verriegelungsschrauben (Abb. 1) und einer minimalinvasiven Applikationstechnik reduziert werden (Curtiss *et al.* 2018; Brandenberger *et al.* 2018).

Schultergelenk

Bei Shetland Ponies mit hochgradiger Lahmheit wegen persistierender Luxation oder Subluxationen sowie fortgeschrittener Osteoarthritis ist die Arthrodese des Schultergelenkes die einzige Therapieoption. Die Langzeitprognose kann trotz einiger Komplikationen als gut bezeichnet werden (Semevolos *et al.* 2003; Auer und Widmer 2009).



Abb. 3: Krongelenksarthrodese bei einem Warmblutpferd 2 Jahre nach der Operation

Arthrodesen bei straffen Gelenken

Einige straffe Gelenke können so versteift werden, daß die athletische Leistungsfähigkeit erhalten bleibt (Krongelenk, distale Intertarsalgelenke).

Beim Krongelenk empfiehlt es sich relativ früh eine Arthrodesen durchzuführen, weil bei diesem Gelenk die konservativen Behandlungsmethoden nur sehr selten erfolgreich sind. Zudem ist die Prognose relativ günstig (Abb. 3).

Bei Luxationen der distalen Tarsalgelenke ist die chirurgische Arthrodesen die einzige Therapieoption. Bei Osteoarthritis der straffen Sprunggelenke ist eine forcierte Ankylosierung der straffen Sprunggelenke erst in Betracht zu ziehen, wenn intraartikulär applizierte Corticosteroide nicht mehr wirksam ist. Bei den verschiedenen Methoden der forcierten Ankylosierung der distalen Tarsalgelenke mittels transartikulären Bohrungen, Laser oder Ethyl Alkohol dauert es in der Regel mindestens 9 bis 12 Monate bis die behandelten Gelenke ankylosiert sind. Alternative kann zusätzlich auch eine chirurgische Versteifung mittels T-Platte durchgeführt werden (Abb. 4).



Abb. 4: Arthrodesen der distalen Sprunggelenke nach Fraktur des Os tarsi tertium und chronischer Osteoarthritis bei einem Warmblutpferd

Literatur

1. Auer JA, Widmer A. Shoulder arthrodesis in a Minishetty stallion (2009). *AO Dialogue* 3, 34-35.
2. Bertone, A.L., Schneiter, H.L., Turner, A.S. and Shoemaker, R.S. (1989) Pancarpal arthrodesis for treatment of carpal collapse in the adult horse. A report of two cases. *Vet Surg* 18, 353-359.
3. Bramlage, L.R. (1985) Arthrodesis of the metacarpophalangeal joint: results in 52 horses. *Veterinary Surgery* 14, 45.
4. Brandenberger, O., Rossignol, F., Bartke, S., Van Bergen, T., & Vitte, A. (2018). Carpal arthrodesis using a minimally invasive approach and locking compression plates: Three cases. *Equine Veterinary Education*, 30(5), 229-236.
5. Carpenter, R.S., Galuppo, L.D., Simpson, E.L. and Dowd, J.P. (2008a) Clinical evaluation of the locking compression plate for fetlock arthrodesis in six thoroughbred racehorses. *Vet Surg* 37, 263-268.
6. Carpenter, R.S., Goodrich, L.R., Baxter, G.M., Joyce, J. and Wallis, T.W. (2008b) Locking compression plates for pancarpal arthrodesis in a Thoroughbred filly. *Vet Surg* 37, 508-514.
7. Chapmann, H.-S., Richardson, D. W., Orved, K.F. (2018) Arthrodesis of the metacarpophalangeal and metatarsophalangeal joints to treat osteoarthritis in 17 horses.

8. Curtiss, A. L., Goodrich, L. R., Rossignol, F., & Richardson, D. W. (2018). Pancarpal and partial carpal arthrodesis with 3 locking compression plates in 6 horses. *Veterinary surgery*, 47(5), 692-704.
9. Semevolos, S.A., Watkins, J.P. and Auer, J.A. (2003) Scapulohumeral arthrodesis in miniature horses. *Vet Surg* 32, 416-420.
10. Waselau, M., Bertone, A.L. and Green, E.M. (2006) Computed tomographic documentation of a comminuted fourth carpal bone fracture associated with carpal instability treated by partial carpal arthrodesis in an Arabian filly. *Vet Surg* 35, 618-625.

Kontakt

Prof. Dr. Christoph Lischer, Freie Universität Berlin, Klinik für Pferde
christoph.lischer@fu-berlin.de

Arthrodesse des Proximalen-Interphalangeal-Gelenkes beim Pferd: ein biomechanischer Vergleich zweier unterschiedlicher LCP-Systeme

Aleksandar Vidović¹, Dorothea Jansen¹, Stefan Schwan², Alexander Goldstein², Christopher Ludtka³, Walter Brehm⁴

¹Pferdeklinik St. Georg in Trier; ²Fraunhofer-Institut für Mikrostruktur von Werkstoffen und Systemen IMWS, Halle; ³University of Tennessee Health Science Center, Memphis, TN, USA; ⁴Universität Leipzig, Veterinärmedizinische Fakultät 4

Die vorliegende Studie vergleicht die mechanische Stabilität und die chirurgische Handhabung zweier Verriegelungsplatten Systeme (Kyon ALPS-20 und Synthes PIP-LCP) für die Arthrodesse des proximalen Interphalangealgelenks beim Pferd. Für diese ex vivo Studie standen sechs Beinpaare (n = 12) von adulten Warmblutpferden zur Verfügung, die aus einem nicht-orthopädischen Grund euthanasiert wurden. Als chirurgische Technik für die Krongelenksarthrodesse wurde eine axial angebrachte Verriegelungsplatte in Kombination mit zwei abaxialen transartikulären 4,5-mm Kortikalisschrauben gewählt. Die ALPS-20 Platte wurde mit drei monokortikal eingesetzten selbstschneidenden 6,4 mm Verriegelungsschrauben fixiert. Alle Schrauben hatten die gleiche Länge von 28 mm. Die Synthes PIP-LCP wurde mit drei bikortikalen Schrauben implantiert: zwei 5,0 mm Verriegelungsschrauben im proximalen und distalen Plattenloch und eine 4,5 mm Kortikalisschraube im mittleren Loch. Die anschließende mechanische Testung der zwei unterschiedlichen Präparat-Implantat-Konstrukte wurde mit Hilfe einer servohydraulischen Anlage, unter Anwendung von einmaliger uniaxialer Belastung, durchgeführt (Testgeschwindigkeit = 50 mm/s, Belastungsamplitude = 80 mm). Zur Dokumentation der Implantat-Deformationen wurden alle Implantate sowohl nach der Implantierung als auch nach der biomechanischen Testung einer CT-Untersuchung unterzogen. Die mechanischen Eigenschaften von Kyon ALPS-20 und Synthes PIP-LCP unterschieden sich in Bezug auf Fließpunkt, Steifheit und maximale Belastung statistisch nicht signifikant ($p > 0.05$). Des Weiteren konnten bei ALPS-20 Implantaten weder nach der Implantierung, noch nach der Testung Deformationen festgestellt werden. Die Platten des PIP-LCP-Systems zeigten nach der Implantation Biegungen in der Längsachse zwischen 2,3° und 10°. Nach der biomechanischen Testung wurden bei vier Platten Längsachsen-Biegungen zwischen 3,1° und 7,0° gemessen, in zwei Fällen kam es zu einem totalen Versagen.

Zusammenfassend wiesen die Kyon ALPS-20 und das PIP-LCP-System in dieser experimentellen ex vivo Studie vergleichbare mechanische Eigenschaften in Bezug auf Fließpunkt, Steifheit und maximale Belastung auf. Somit sollte das ALPS-20 für die Krongelenksarthrodesse beim Pferd als eine mögliche Alternative zu dem aktuell als Goldstandard anzusehenden PIP-LCP-System in Betracht gezogen werden.

Kontakt

Aleksandar Vidović, Pferdeklinik St. Georg, Trier
vidovic@pferdeklinik-trier.de

Erste Anwendungen des neuen Kyon PIP Arthrodesse-Systems beim Pferd

Walter Brehm

Klinik für Pferde, Universität Leipzig

Zu diesem Vortrag wurde kein Manuskript eingereicht.

TVT-Merkblatt zur Haltung alter Pferde

Angela Schwarzer, Andreas Franzky, Kristina Pietrow

Arbeitskreis 11 Pferde der Tierärztlichen Vereinigung für Tierschutz e.V.; Bramsche

Wann ist ein Pferd alt?

Nach Hochrechnungen der FN auf Grundlage verschiedener Studien und Zahlen leben ca. 1,3 Mio. Pferde in Deutschland, der Anteil älterer Turnierpferde (16-jährig und älter) liegt bei knapp 10 % (1).

Ab einem Alter von ca. 20 Jahren können Pferde als alt betrachtet werden. Dies ist sowohl von der Rasse, als auch vom einzelnen Individuum abhängig. Typische Anzeichen des Alterungsprozesses bei Pferden sind eine Ergrauung der Haare im Gesicht, die Trübung der und Vertiefungen hinter den Augen, die durch das Schwinden des Fettpolsters hinter den Augen entstehen. Durch das Schwinden der Rückenmuskulatur wird häufig das Hervortreten von Wirbelkörpern und Rippen beobachtet, oft im Zusammenhang mit der Ausbildung eines Senkrückens (Abbildung 1). Ab diesem Alter treten auch vermehrt Lahmheiten auf. Alte Pferde fressen oft langsamer und zeigen Schwierigkeiten beim Kauen. Der Seh- und Geruchssinn lässt bei älteren Individuen nach, so dass sie oft schreckhafter als in jüngeren Jahren reagieren, da sie Gefahren schlechter einschätzen können.

Wie auch andere ältere Individuen können Pferde ab einem bestimmten Alter spezielle Pflege, Behandlung, Haltungsbedingungen und Fütterung benötigen. Das Merkblatt „Haltung alter Pferde“ der tierärztlichen Vereinigung für Tierschutz soll dem Halter einen Überblick über wesentliche Problemfelder verschaffen, die zu beachten sind wenn ihr Pferd altert.



Abbildung 1: Freie Bewegung mit Artgenossen ist nicht nur für ältere Pferde empfehlenswert. Der Haflinger links im Bild ist 20 Jahre alt, der Haflinger rechts 28 Jahre. Sein Alter ist am Senkrücken und dem ergrauten Gesichtsfell zu erkennen.

Haltung und Fütterung

Allgemein gelten für alte Pferde – genauso wie für alle anderen Pferde auch – die Leitlinien zur Beurteilung von Pferdehaltungen unter Tierschutzgesichtspunkten des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten (2). Der Gesundheitszustand und Pflegebedarf eines älteren Tieres kann jedoch zu höheren Anforderungen an die Haltung und Fütterung führen. Der Ablege- und Aufstehvorgang ist für ältere Pferde anstrengend. Ältere Pferde haben aus diesem Grund höhere Ansprüche an den Liegebereich die ggf. über die Mindestanforderungen der Leitlinien hinausgehen. Verschiedene Studien belegen, dass Pferde bei Schlafmangel aus einer dösen

Haltung heraus kollabieren und sich verletzen können. Dies betrifft insbesondere ältere Individuen über 15 Jahre (Literaturübersicht siehe Dissertation Fuchs, 2017 (3)). Bei der Fütterung in der Gruppenhaltung muss sichergestellt werden, dass alte, langsamer fressende Pferde genügend Zeit haben, in Ruhe die benötigte Futtermenge aufzunehmen. Eventuell ist eine stundenweise Separation sinnvoll.

Gegebenenfalls muss die bisherige Haltungsform kritisch hinterfragt werden. Beispielsweise kann es vorkommen, dass ein altes Pferd mit orthopädischen Problemen nicht mehr mit den weiten Wegen und häufigen Neuintegrationen in einer großen Offenstallherde zurechtkommt. Andererseits kann es geboten sein, einem älteren Pferd mit Arthrosen über eine Änderung der Haltungsform zu mehr freier Bewegung im Schritt zu verhelfen. Dies kann z.B. über einen Wechsel von Einzelhaltung mit relativ wenig Freilauf in eine kleine Offenstallherde mit anderen älteren Pferden erfolgen (Abb. 1).

Hinsichtlich der Fütterung gelten die allgemeinen Grundsätze. Der Erhaltungsbedarf sollte mittels rohfaserreichen Grobfutter (Grünfutter und Grünfutterkonserven) gedeckt werden, energiereiches Konzentratfutter in so geringen Mengen wie möglich verabreicht werden. Die Einstreu sollte – mit Ausnahme tierärztlicher Indikation – aus Stroh guter Qualität bestehen. Das Futter sollte möglichst gleichmäßig über den Tag verteilt gegeben werden. Die Mindestfressdauer beträgt 12 Stunden pro 24 Stunden, wobei Freßpausen von mehr als 4 Stunden zu vermeiden sind (4, 5). Wenn alte Pferde Raufutter nicht mehr adäquat kauen können, muss die Fütterung angepasst werden. Bei Pferden mit Kauschwierigkeiten oder chronischen Zahnproblemen kann versucht werden, Raufutter in Form von eingeweichten Heucobs zu verfüttern. Zum Einweichen ist eine ausreichende Wassermenge zu verwenden und eine entsprechende Einweichzeit einzuhalten, da sonst die Gefahr einer Schlundverstopfung besteht. Bei feuchtem Futter ist auf ausreichende Troghygiene zu achten (Gefahr der Futtergärung durch Wärme).

Gesundheitskontrolle und Pflegemaßnahmen

Insbesondere bei alten Pferden ist die tägliche Kontrolle hinsichtlich Gesundheitszustand und Verletzungen notwendig, auch wenn sie nicht geritten oder gefahren werden. Der Beurteilung des Allgemeinzustandes, des Habitus und der Futteraufnahme kommt bei älteren Tieren besondere Bedeutung zu. Der Body Condition Score stellt dabei einen objektiven und leicht zu erfassenden Parameter dar (6). Da die Muskelmasse bei körperlichen Einschränkungen nicht erhalten werden bzw. nach Erkrankung nur schwierig wieder aufgebaut werden kann, ist der Ernährungszustand von Pferden mit substanziellen körperlichen Defiziten differenziert zu beurteilen. Regelmäßige Pflegemaßnahmen, wie Vorstellung beim Hufschmied, Wurmkuren und Zahnkontrollen sind bei älteren Pferden genauso notwendig wie bei jüngeren Tieren.

Erkrankungen

Auch wenn das Alter an sich keine Krankheit ist, gibt es einige Probleme, die vermehrt bei älteren Pferden auftreten. Beim Bewegungsapparat sind vor allem arthrotisch veränderte Gelenke der Wirbelsäule und der Gliedmaßen zu nennen. Ruhige Bewegung im Schritt und eine längere Aufwärmphase beim Reiten sind empfehlenswert.

Durch einen ungleichmäßigen Zahnabrieb können scharfe Kanten und Haken entstehen. Das Gebiss sollte daher mindestens einmal pro Jahr fachkundig kontrolliert werden. Ein typisches Symptom für Zahnprobleme ist das sog. „Wickelkauen“. Verstopfungskoliken können eine weitere Folge unzureichender Raufutterzerkleinerung sein. Trinken ältere Pferde zudem nicht ausreichend, kann der Futterbrei im Darm eintrocknen und dadurch zu Anschoppungen führen. Bei Kälte kann temperiertes Wasser zum Trinken animieren, eventuell werden offene Wasserbehälter, wie Eimer, besser angenommen als Selbsttränken.

Ältere Pferde leiden zu verschiedenen Augenkrankheiten. Bei Wesensänderungen oder vermehrtem Erschrecken/Scheuen, ist eine tierärztliche Untersuchung der Augen angeraten.

Wie bei älteren Menschen sind auch ältere Pferde anfälliger für Krankheiten und brauchen länger, um sich von Krankheiten und Verletzungen zu erholen. Erkrankungen des Hormonsystems wie das Equine Cushing Syndrom (ECS/PPID) treten häufiger bei älteren Tieren auf. Diese Aufzählung ist nicht abschließend.

Gnadenhöfe

Es muss sichergestellt sein, dass das alte Pferd mit dem Haltungssystem auf dem Gnadenhof zurechtkommt insbesondere wenn es durch die Umstallung zu einem Wechsel des Haltungssystems kommt. Haltung und Betreuung alter Pferde erfordert sachkundiges Management verbunden mit einer hohen fachlichen Kompetenz. Insbesondere in der Anfangsphase sind regelmäßige Besuche anzuraten. Der Besitzer sollte selbstverständlich informiert werden, wenn z. B. das Pferd krank wird oder sich die Haltungsansprüche wesentlich ändern.

Tötung

Besitzer alter Pferde sollten sich frühzeitig mit der Frage auseinandersetzen, wann und wie das Leben seines Pferdes beendet werden soll bzw. muss. Das Verhalten des Pferdes liefert wichtige Hinweise. Es sollte darauf geachtet werden, ob das Pferd gut frisst, sich zum Schlafen hinlegt, sich in der Herde integriert und allgemein an seiner Umwelt Anteil nimmt. Empfehlenswert ist u.U. ein Tagebuch, in dem später objektiv nachgelesen werden kann, wie die Relation von „guten“ zu „schlechten“ Tagen ist. Sollten sich bestehende Erkrankungen trotz Behandlung verschlechtern, ist der Tierarzt der richtige Ansprechpartner zur Einschätzung, ob das Pferd ohne erhebliche Schmerzen und Leiden weiterleben kann.

Grundsätzlich besteht die Möglichkeit des Einschläfern (Euthanasie) durch den Tierarzt oder der Betäubung und Tötung durch eine sachkundige Person mittels Bolzenschuss und Blutentzug. Ist das Pferd in seinem Equidenpass als Schlachtpferd eingetragen, kann das Fleisch verwertet werden. Weitere Informationen zum Töten von Pferden finden sich im TVT-Merkblatt Nr. 142 „Betäuben und Töten von Pferden“ (7).

Literatur

1. <https://www.pferd-aktuell.de/fn-service/zahlen--fakten/zahlen--fakten> (Zugriff: 10.09.2019)
2. Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (2009): Leitlinien zur Beurteilung von Pferdehaltungen unter Tierschutzgesichtspunkten. Quelle: https://www.bmel.de/DE/Tier/Tierschutz/Tierschutzgutachten/_texte/GutachtenDossier.html;jsessionid=499F343EC90ADB7F40D4F8F9CCD00EB5.2_cid288?nn=310198¬First=true&docId=377434. Zugriff: 10.09.2019
3. Fuchs C. Narkolepsie oder REM-Schlafmangel?: 24-Stunden-Überwachung und polysomnographische Messungen bei adulten „narkoleptischen“ Pferden [Dissertation]. LMU München: Tierärztliche Fakultät; 2017.
4. Brade W, Distl O, Sieme H, Zeyner A, Herausgeber. Pferdezücht, -haltung und -fütterung. Empfehlungen für die Praxis. Sonderheft 353. Landbauforschung Johann Heinrich von Thünen-Institut, Braunschweig; 2011
5. Zeitler-Feicht, M. Handbuch Pferdeverhalten. Ulmer Verlag, Stuttgart; 2008
6. Hois C. Feldstudie zur Gewichtsentwicklung und Gewichtsschätzung beim wachsenden Pferd [Dissertation]. LMU München: Tierärztliche Fakultät; 2004
7. Tierärztliche Vereinigung für Tierschutz e.V. Merkblatt Nr. 142. Betäuben und Töten von Pferden; 2015. <https://www.tierschutz-tvt.de/alle-merkblaetter-und-stellungnahmen/?L=0#c282>. Zugriff: 10.09.2019

Kontakt

Dr. Angela Schwarzer, Tierärztliche Vereinigung für Tierschutz e.V.
 pferde@tierschutz-tvt.de

Das geriatrische Pferd aus internistischer Sicht

Katja Roscher

Klinik für Pferde, Innere Medizin; Justus-Liebig-Universität; Gießen

In den letzten Jahren ist der Anteil älterer Pferde kontinuierlich gestiegen. Dies belegen unter anderem Daten aus den USA: So waren bei einer fast unveränderten Population von ca. 4 Millionen Pferden im Jahr 1998 5,6 % der Population älter als 20 Jahre, im Jahr 2005 bereits 6,9 % und 2015 9,9 % zwischen 20 und 30 Jahren. Die Anzahl der Pferde älter als 30 Jahre hat sich zwischen 2005 und 2015 mit einer Steigerung von 0,7 auf 1,5 % sogar nahezu verdoppelt (1). In England waren bei Untersuchungen des Patientenstamms von 20 Pferdepraxen in Nordwest- und Mittelengland ebenfalls über 10% der Tiere älter als 20 Jahre (2).

Bei der Betrachtung der auftretenden medizinischen Probleme in der Altersklasse über 20 Jahre stehen sowohl in der US-amerikanischen wie den englischen Untersuchungen Lahmheiten gefolgt von Verletzungen, Koliken und Atemwegserkrankungen im Vordergrund.

Für die Population der Pferde in Deutschland liegen solche Daten leider nicht vor. Dass es jedoch hier vermutlich ebenfalls immer mehr ältere Pferde gibt zeigt sich auch im Patientengut unserer Klinik. Als reine Überweisungsklinik für internistische Patienten spiegeln unsere Daten natürlich nicht die Gesamtpopulation der Pferde und Ponys in Deutschland wieder. In den letzten Jahren ist die Zahl unserer geriatrischen internistischen Patienten jedoch stetig angestiegen: Im Jahr 2010 waren ca. 16 %, 2015 bereits 22 % der Tiere älter als 20 Jahre. Da in unserer Klinik ausschließlich internistische Patienten behandelt werden, betreffen die meisten Erkrankungen den Verdauungstrakt.

Verdauungsapparat

Hierbei treten aufgrund der anatomischen Bedingungen bei älteren Pferden regelmäßig Zahnprobleme auf, die jedoch nur in seltenen Fällen alleinig zu erheblichen Beeinträchtigungen führen. Wird die Ursache der Kaustörung nicht beseitigt, kommt es längerfristig zu einer Abnahme der äußeren Kaumuskulatur. Eine unzureichende Zerkleinerung des Raufutters ist zudem ein prädisponierender Faktor für die Entstehung primärer Obstipationen im Dickdarm. Ist aufgrund des fehlenden Zahnmaterials eine Korrektur des Gebisses nicht mehr oder nur noch eingeschränkt möglich, kann durch ein entsprechendes Futtermanagement eine annähernd adäquate Energieversorgung des älteren Patienten gewährleistet werden, um einem Gewichtsverlust vorzubeugen oder entgegenzuwirken.

Das Auftreten von Koliken ist beim alten Pferd nicht häufiger zu beobachten als in anderen Altersgruppen. Jedoch besteht ein Zusammenhang zwischen Ursache der Kolik und dem Alter. So treten strangulierende Dünndarmerkrankungen durch pendelnde Lipome gehäuft bei Pferden über 16 Jahre auf. Eine Häufung in dieser Altersklasse besteht darüber hinaus für die eher selten auftretenden Obstipationen des Colon descendens (3). Im Falle einer chirurgischen Therapie hat das Alter des Pferdes grundsätzlich keinen Einfluss auf den Ausgang der Operation (3, 4). Entscheidend ist vor allem der möglichst frühe Zeitpunkt der Operation. In die Entscheidung zur Kolik-OP sollten jedoch grundsätzlich bei jedem Pferd unabhängig vom Alter weitere Erkrankungen wie eine chronische Hufrehe oder hochgradige Arthrosen mit einbezogen werden und der klinische Gesamtzustand des Tieres maßgebend für die Entscheidung sein. Eine Prophylaxe bezüglich der Entstehung der Lipome gibt es nicht.

Chronischer Gewichtsverlust tritt bei Pferden über 20 Jahre ebenfalls mit einer deutlich höheren Prävalenz im Vergleich mit jüngeren Pferden auf (4,5 % bzw. 0,5 %) und ist auch deutlich häufiger

Grund für eine Euthanasie (5). Die Ursachen des Gewichtsverlustes können hierbei sehr vielfältig sein: Zahnprobleme, Schmerzen insbesondere des Bewegungsapparates, unzureichende Energieversorgung durch nicht altersgerechte Rationsgestaltung sowie neoplastische Erkrankungen wie das Plattenepithelkarzinom des Magens und das maligne Lymphom (Lymphosarkom) sollten hierbei auf der Liste der möglichen Differentialdiagnosen stehen. Die Verdachtsdiagnose malignes Lymphom lässt sich häufig nur nach dem Tod des Tieres bestätigen. In seltenen Ausnahmefällen können entartete Zellen im Abdomen- oder Thorax-Punktat sowie in peripheren Lymphknoten nachgewiesen werden, im Blut gelingt dies praktisch nie.

Endokrinium

Die Dysfunktion der Hypophyse (PPID, pituitary pars intermedia dysfunction) ist die häufigste und wichtigste hormonelle Erkrankung insgesamt und insbesondere bei älteren Equiden. Sie tritt bei etwa 20 % der Tiere älter als 15 Jahre auf (6, 7). Als Ursache für die Dysfunktion wird ein Verlust von Nervenzellen in dem der Hypophyse übergeordneten Hirnabschnitt (Hypothalamus) als wahrscheinlich angesehen. Diese Nervenzellen sind für die Produktion eines für die normale Funktion der Hypophyse wichtigen Botenstoffes, dem Dopamin verantwortlich.

Neben den klassischen Symptomen der Störungen des Haarkleides (Hypertrichie) und den Störungen im Fellwechsel (verzögert oder vollständig fehlend) sind v.a. Muskelschwund in der oberen Rückenlinie und eine Fettumverteilungen mit typischen Fettdepots über den Augen und am Unterbauch von Bedeutung. Darüber hinaus leidet ca. ein Viertel der Patienten unter rezidivierender Hufrehe, welche zu Hornwachstumsstörungen und dem Auftreten der klassischen divergierenden Ringe führt. Gelegentlich zeigen die Pferde Lethargie und Neigungen zu wiederkehrenden Infektionen wie beispielsweise Phlegmonen, eher seltener sind Polydipsie und Polyurie zu beobachten. Der genaue Zusammenhang zwischen den klassischen Symptomen und den hormonellen Veränderungen ist wissenschaftlich noch immer nicht vollständig aufgedeckt.

Das klinische Bild der Haarwuchsstörungen ist pathognomonisch und prinzipiell ausreichend für die Diagnosestellung. Andererseits schließt das Fehlen dieses Symptoms eine bestehende Erkrankung nicht vollständig aus. Treten somit andere der oben beschriebenen Symptome bei einem älteren Pferd auf, sollte prinzipiell als Ursache eine PPID in Betracht gezogen werden. Dies gilt besonders für die rezidivierende Hufrehe beim älteren Pferd.

Zur Diagnosestellung und -sicherung sowie Therapiekontrolle können verschiedene Laboruntersuchungen eingesetzt werden. Der historische Goldstandard war der Über-Nacht-Dexamethason-Suppressionstest. Moderner und weniger aufwändig ist die Bestimmung des Gehaltes an ACTH (Adrenocorticotropes Hormon) im Blut. Dieses Hormon wird bei der PPID durch die Fehlfunktion der Hypophyse vermehrt gebildet. Seine Konzentration im Blut unterliegt jedoch erheblichen jahreszeitlichen Schwankungen: So weisen sowohl gesunde als auch kranke Pferde im Herbst deutlich höhere Werte auf als in den anderen Jahreszeiten. Gleichwohl ist der Unterschied zwischen gesunden und kranken Pferden im Herbst deutlich größer, so dass dieser Zeitpunkt besonders gut für die erfolgreiche Diagnostik geeignet ist. Bedingt durch die Instabilität des Hormons in der Blutprobe bestehen spezifische Anforderungen für die Entnahme (Stabilisator), die Probenbearbeitung und den Versand, welche vor der Entnahme beim Labor zu erfragen sind.

In der Therapie der PPID ist der Dopamin-Agonist Pergolid seit vielen Jahren etabliert. Da es sich lediglich um eine Substitution handelt, ist eine lebenslange Behandlung notwendig und dient vor allem der Verbesserung der Lebensqualität des Tieres. Mit Verbesserungen des typischen klinischen Bildes der PPID ist meist bereits innerhalb von 4-6 Wochen, spätestens nach 3 Monaten Behandlung mit Pergolid (2 µg/kg KGW/Tag) zu rechnen. Bestehen die Symptome weiterhin, sollte die verabreichte Dosis um 1 µg/kg KGW/Tag im Abstand von 4-6 Wochen bis zum Verschwinden der klinischen Problematik gesteigert werden. Das Überschreiten einer Gesamtdosis von 10 µg/kg KGW/Tag wird nicht empfohlen. Beruht die eingeleitete Therapie auf der Bestimmung von ACTH ist

zu beachten, dass Blutspiegel gesunder Pferde nicht immer erreicht werden. Eine ursächliche Therapie oder Prophylaxe der PPID gibt es nicht.

Eine wichtige Differentialdiagnose bei rezidivierender Hufrehe stellt das equine metabolische Syndrom (EMS) dar. Diese Erkrankung findet sich eher bei jüngeren Pferden kann jedoch gleichwohl auch beim älteren Pferd auftreten. Ursache ist eine energetische Überversorgung der Pferde gekennzeichnet durch eine generalisierte Obesitas oder lokale Adipositas mit Fettdepots in der oberen Halslinie, auf der Kruppe, hinter dem Ellbogen und beim Wallach am Präputium. Zentrale hormonelle Problematik ist die Insulin-Resistenz. In der Therapie von elementarer Bedeutung ist das Einhalten einer strikten Diät.

Atmungs- und Herz-Kreislauf-Organ

Viele erwachsene Pferde leiden unter einer chronischen obstruktiven Bronchitis (COB, Equine Asthma). Früher war man der Ansicht, dass die Erkrankung mit zunehmendem Alter zwangsläufig fortschreitet, was jedoch nicht der Fall ist. Bei konsequenter dauerhafter Staubvermeidung - dem Hauptauslöser und -aufrechterhalter der COB - lässt sich die Erkrankung zwar nicht heilen, es lässt sich jedoch häufig zumindest phasenweise eine weitgehende Symptombefreiung erreichen und ein dramatisches Fortschreiten der Erkrankung verhindern.

Erkrankungen des Herzens finden sich bei etwa einem Fünftel der geriatrischen Patienten. Zumeist handelt es sich um degenerative Veränderungen der Herzklappen (Aorten- gefolgt von der Mitralk- und der Trikuspidalklappe), welche in der Regel mit einer Insuffizienz einhergehen. Lebensbedrohend werden die kardialen Funktionsstörungen, wenn Symptome einer klinisch manifesten Herzinsuffizienz auftreten. Hierzu zählen Mattigkeit, erhöhte Puls- und Atemfrequenzen, Ödembildung unter der Vorderbrust zwischen den Vordergliedmaßen sowie Stauung und Hervortreten der Halsvenen.

Ähnliche Symptome können auch bei einem Thoraxerguss auftreten. Dieser lässt sich im Rahmen der klinischen Untersuchung sehr leicht durch eine Thoraxperkussion in Form einer horizontalen Dämpfungslinie erkennen. Beim älteren Pferd muss auch hier eine tumoröse Ursache in Betracht gezogen werden. In den insgesamt sehr seltenen Fällen handelt es sich meist um ein malignes Lymphom oder noch seltener ein Hämangiosarkom.

Gesundheitsprävention

Eigene Erfahrungen sowie die Untersuchungen aus England haben gezeigt, dass Impfungen bei vielen älteren Pferden nur noch unregelmäßig oder gar nicht mehr erfolgen. Manche Tierbesitzer glauben, dass die regelmäßigen Impfungen in jungen Jahren die Pferde auch ohne Auffrischungsimpfungen im Alter vor Erkrankungen schützen, oder dass Impfungen bei alten Tieren nicht mehr wirksam seien. Beides ist nichtzutreffend. Nur eine regelmäßige Auffrischung sorgt für einen sicheren Schutz. Unverzichtbar ist bei Pferden (und allen anderen Equiden wie z.B. Eseln) hierbei der Impfschutz gegen Tetanus.

Literatur

1. National Animal Health Monitoring System. Changes in the U.S. Equine Industry, 1998–2015. In: United States Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service, Hrsg. Equine 2015; 2016.
2. Ireland JL, Clegg PD, McGowan CM, McKane SA, Pinchbeck GL. A cross-sectional study of geriatric horses in the United Kingdom. Part 1: Demographics and management practices. Equine Vet J 2011; 43(1):30–6. doi: 10.1111/j.2042-3306.2010.00145.x.
3. Southwood LL, Gassert T, Lindborg S. Colic in geriatric compared to mature nongeriatric horses. Part 2: Treatment, diagnosis and short-term survival. Equine Veterinary Journal 2010; 42(7):628–35. doi: 10.1111/j.2042-3306.2010.00085.x.

4. Gazzerri DM, Southwood LL, Lindborg S. Short-term complications after colic surgery in geriatric versus mature non-geriatric horses. *Vet Surg* 2015; 44(2):256–64. doi: 10.1111/j.1532-950X.2014.12281.x.
5. National Animal Health Monitoring System. Baseline Reference of Equine Health and Management in the United States. In: United States Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service, Hrsg. *Equine* 2015; 2016.
6. Ireland JL, Clegg PD, McGowan CM, McKane SA, Pinchbeck GL. A cross-sectional study of geriatric horses in the United Kingdom. Part 2: Health care and disease. *Equine Vet J* 2011; 43(1):37–44. doi: 10.1111/j.2042-3306.2010.00142.x.
7. McGowan TW, Pinchbeck GP, McGowan CM. Prevalence, risk factors and clinical signs predictive for equine pituitary pars intermedia dysfunction in aged horses. *Equine Veterinary Journal* 2013; 45(1):74–9. doi: 10.1111/j.2042-3306.2012.00578.x.

Kontakt

PD Dr. Katja Roscher, Klinik für Pferde - Innere Medizin, Klinikum Veterinärmedizin, Justus-Liebig-Universität Gießen
Katja.Roscher@vet.jlug.de

Wie man sich bettet so liegt man - Schlafstörungen beim alternden Pferd

Anna-Caroline Wöhr

Ludwig-Maximilians-Universität München

Zu diesem Vortrag wurde kein Manuskript eingereicht.

Ernährung: Alte Pferde müssen nicht mager sein!

Kathrin Irgang

Tierärztliche Beratungspraxis für Ernährung, Berlin

Einleitung

In Deutschland leben immer mehr alte Pferde – ca. 10 bis 20 % sind über 20 Jahre alt (1).

Die Mensch-Pferd-Beziehung ist im Vergleich zu anderen Mensch-Haustier-Beziehungen nicht zuletzt aufgrund ihrer Länge einzigartig und dadurch von großer sozialer Bedeutung (2). Pferde werden zunehmend älter, weil zum einen ihre Arbeitsbelastung deutlich geringer geworden ist und sich zum anderen die tiermedizinische Versorgung erheblich verbessert hat. Sie entwickeln sich immer mehr zu Freizeitpartnern, denen der Mensch emotional zugetan ist und für die er bereit ist, höhere ökonomische Ausgaben (3) auch im Hinblick auf ihre Lebensqualität im Seniorenalter auf sich zu nehmen.

Gesunde Pferdesenioren mit wenig Bewegung neigen zur Fettleibigkeit, einem Risiko für Insulinresistenz, Hufrehe und Lahmheit (4). Dieser Zusammenhang wird jedoch in der Öffentlichkeit (noch) nicht als tierschutzrelevant wahrgenommen, vielmehr werden abgemagerte Pferde beim Veterinäramt angezeigt.

Was ändert sich im Alter klinisch, bei der Futteraufnahme und bei der Verdauung?

Die wesentliche klinische Symptomatik beim alternden Pferd besteht aus Muskelschwund (Sarcopenia), Gewichtsverlust und beginnenden Organ-dysfunktionen (3). Zahnprobleme, Koliken (Verstopfung, mesenteriale Lipome), Pituitary Pars Intermedia Dysfunction (PPID) und Lahmheiten (chronische Hufrehe, Osteoarthritis) treten häufig auf, außerdem ein erhöhtes Infektionsrisiko (Endoparasiten), Glaukom sowie Herz-Kreislauf- und Atemwegserkrankungen (5, 6).

Eine altersbedingt geringere Futteraufnahme kann an einer nachlassenden Fressfähigkeit oder -bereitschaft, die sorgfältig untersucht werden sollte, oder an einem reduzierten Energiebedarf aufgrund von geringerer Aktivität und aus dieser resultierendem Muskelabbau (3) liegen.

Zahnerkrankungen (Diastema, Periodontalerkrankung, Verlust von effektiven Kauflächen und Zahnverlust) führen zu eingeschränktem Kauen und einer verminderten Faserverdaulichkeit, d. h., es treten vermehrt lange Fasern und ganze Getreidekörner im Kot auf (3). Das Risiko von Schlundverstopfung und Obstipationskolik steigt. Die Nährstoffverdaulichkeit sinkt und kann unerwünschte Veränderungen der Dickdarmmikroflora hervorrufen. Schon bei alten gesunden Pferden ist mit steigendem Alter eine verminderte bakterielle Diversität nachweisbar, allerdings ohne messbare Veränderungen der scheinbaren Verdaulichkeit der Nährstoffe. Insgesamt kann der Erhaltungsbedarf nicht mehr gedeckt werden – das Pferd nimmt ab. Oft geht damit ein Rangverlust in der Herde einher. Kommt Lahmheit dazu, reduziert Schmerz zudem Futteraufnahme und Bewegung. Muskelabbau ist die Folge, wodurch auch die Thermoregulation beim Seniorpferd schlechter wird. Zusätzlich nimmt die Leberfunktion ab: Katabole Stoffwechselprozesse überwiegen, und der normale Turnover in Geweben wird gebremst (3).

Um die Lebensqualität von alten Pferden zu verbessern, ist es wichtig, dass Symptome einer Erkrankung nicht als Anzeichen des Alterns verkannt werden und alten Pferden nicht weniger tierärztliche Untersuchung und Prophylaxe zugestanden wird als früher. Neben einer gründlichen klinischen Untersuchung sollte eine Bewertung der Haltung und Aktivität (Charakter, Verhalten, tägliche Gewohnheiten) mit dem Besitzer erfolgen, um eine individuelle Perspektive zu ermitteln. Eine gute Gesundheit bedeutet für Pferdebesitzer Wohlbefinden für ihr Pferd (7). Dabei spielt die Ernährung eine entscheidende Rolle.

Ernährungsmanagement alter Pferde – Faustzahlen

Eine realistische Einschätzung von Körpergewicht, Ernährungszustand und Leistung bildet die Grundlage für die Rationsgestaltung. Normale Körpergewichte einiger Pferderassen sind in Tabelle 1 aufgelistet.

Tabelle 1: Übersicht über Körpergewichte verschiedener Pferderassen (8)

Rasse	(Ideal-)Gewicht [kg]
Shetlandpony	100 – 220
Isländer, Welsh, Connemara	300 – 400
Araber	400 – 450
Haflinger	450 – 500
Vollblüter	450 – 550
Deutsches Warmblut	500 – 700
Quarter Horse	500 – 650
Deutsches Kaltblut	600 – 800

Alternativ können Maßbänder zur Gewichtsschätzung aus vor allem Körperumfangsmaßen verwendet werden. Wenn die Bänder neben dem Brustumfang auch ein Körpergewicht angeben, fällt dieses erfahrungsgemäß um ca. 10 % geringer aus als das tatsächliche Gewicht idealgewichtiger Pferde. Zudem ist ihre Verwendbarkeit auf adulte Warmblüter beschränkt, weshalb besser mit Formeln abhängig vom Körperumfang für alle Pferde, auch Ponys, gearbeitet wird, z. B. für einen Körperumfang zwischen 366 und 450 cm (9):

$$\text{KM [kg]} = -1160 + 1,54 \times \text{KU} + 1,34 \times \text{BU} + 1,49 \times \text{HU} + 6,23 \times \text{RU} + 2,59 \times \text{WB} + 13,63 \times \text{BCS}$$

Der Ernährungszustand kann nach einem 5- oder 9-Punkte-System beurteilt werden: von 1 kachektisch bis 5 bzw. 9 fetter geht nicht – Body Condition Score (10). Dabei bleibt zu berücksichtigen, dass Pferdebesitzer sowohl zu dicke (> BCS 6) als auch zu dünne Pferde (< BCS 4) oft nicht als solche einzuschätzen vermögen (11, 12).

Praxisbeispiel: Ein idealgewichtiges Warmblut mit 500 kg KM bringt bei BCS 2 ca. 20 % weniger Gewicht (400 kg) auf die Waage. Die Futtermengen sollten sich am angestrebten Idealgewicht orientieren. Am besten erfolgt die Beurteilung des BCS gemeinsam mit dem Pferdebesitzer. Eine Gewichtszunahme ist zuerst am BU, dann am BCS festzustellen (+5 cm BU entsprechen ca. +35 kg KM).

Gesunde alte Pferde – wie adulte nach Leistung füttern

Grundsätzliches (1, 5, 13, 14):

- Energie nach BCS (eher mehr als bisher, insbesondere bei Kälte wegen reduzierter Thermoregulation, Öle und Rübenschnitzel nutzen)
- Proteinzulage 10 – 20 % (z. B. über Weidegras, Sojaextraktions- oder Leinschrot)
- Mineral- und Vitaminversorgung: Ca am Bedarf zur Prophylaxe von Kristallurie (cave Luzerne!), Versorgung mit Zink, Selen, Vitamine A und E verdoppeln, Bierhefe (B-Vitamine) 50 g/100 kg KM, Vitamin C 4 – 5 g/100 kg KM)
- schmackhaft und hygienisch einwandfrei (Gären von eingeweichem Futter!)
- kein Stroh (Verstopfungsrisiko!)

- Wasserversorgung und -aufnahme gewährleisten (eingeweichtes Futter, warmes Wasser im Winter, muss erreichbar sein in der Gruppe, sauber, zur freien Verfügung, zusätzlich 30 – 60 g Salz am Tag)
- Management im Offenstall: z. B. Rangverlust beachten, langsames Fressen in abgetrenntem Bereich auf Paddock/Weide ermöglichen, Krippenfutter höher anbieten bei Gelenkerkrankung in Vorderbeinen, eingeschränkte Bewegung und Beweglichkeit berücksichtigen (Erreichbarkeit des Futters), Gesellschaft mit mindestens einem weiteren verträglichen Pferd, Futter warm anbieten, Pferd bei Nässe und Kälte eindecken, scheren bei Hitze

Tabelle 2: Rationsgestaltung für gesunde alte Pferde (Erhaltungsbedarf)(1, 4, 5, 8, 15)

BCS	Heu	Wasser, Ergänzungen	Kraftfutter
5 – 7	1,7 – 2,5 kg/100 kg KM, Cobs 10 – 50 % bei Gewichtsverlust/Zahnproblemen	Wasser ad lib., Salzleckstein, Mineralfutter	0 – 0,25 kg/100 kg KM bei leichter Arbeit, 0 – 10 ml Pflanzenöl/100 kg KM
> 4			0,25 – 0,5 (max. 1) kg/100 kg KM (mit 12 – 14 % Rp und 4 – 7 % Rfe), max. 300 g/100 kg KM und Mahlzeit, cave Stärke und Zucker

Fütterungsbeispiel mit Kosten pro Tag:

Für 500 kg Seniorwarmblut (BCS 5) 10 kg Heu + 100 g Senioremineralfutter → 2,14 €

Erkrankte alte Pferde, BCS < 4:

energiedichter und anteilig mehr Cobs bis zum kompletten Heuersatz

- Zahnprobleme

Kot beurteilen: Gibt es viele Fasern > 4 mm? (14, 16)

Fresszeit für 1 kg Heu ermitteln (normal: 30 – 40 min)

Tabelle 3: Rationsgestaltung für alte Pferde mit Zahnproblemen (Erhaltungsbedarf) (1,2,4,5,8,14,15)

BCS	Heu	Wasser, Ergänzungen	Kraftfutter
< 4	1,7 (– 2,5) kg/100 kg KM und Weide, evtl. nur als Beschäftigung, solange keine Schlundverstopfung oder Obstipationskolik auftritt, Cobs bis 100 % in 4 Mahlzeiten, eingeweicht	Wasser ad lib., Salzleckstein, Mineralfutter	0,25 – 0,5 (max. 1) kg/100 kg KM (mit 12 – 14 % Rp und 4 – 7 % Rfe), max. 300 g/100 kg KM und Mahlzeit, (Rübenschnitzel, Pellets, Öle, hydrothermisch behandelte Getreideflocken, keine ganzen Körner, alles eingeweicht)

- **Pars Pituitary Intermedia Dysfunction (PPID)**

Für Pferdesenioren mit PPID werden grobfutterbasierte Rationen mit wenigen löslichen Kohlenhydraten (Verzicht auf Weidegang und übliche Kraffutter) empfohlen, um dem Risiko eines Reheschubs infolge von Insulinresistenz weitmöglichst vorzubeugen (12). Zusätzlich ist eine Proteinzulage sinnvoll, um dem krankheitsbedingten Muskelabbau entgegenzuwirken.

Bei der Untersuchung der Ernährung von 36 Pferden mit PPID (12) wurden diese zu selten ($2 \pm 0,7$ Raufuttermahlzeiten) und vor allem die Großpferde zu wenig gefüttert, was grundlegend zu ihrem mageren Ernährungszustand beigetragen hat ($BCS 2,7 \pm 0,8/9$, insbesondere im Bereich von Hals, Schulter und Schweifansatz). Neben der Unterversorgung mit Energie und Eiweiß war die geschätzte Versorgung bei Kupfer, Zink und Selen, Vitamin A und E zu gering. Alte Pferde in Gruppenhaltung sollten daher hinsichtlich der Raufutterraufnahme gezielt überwacht werden. Da ein Futtersparen unter Pergolidtherapie eher unwahrscheinlich ist, sollten Besitzer intensiver zur Rationsgestaltung beraten werden, um ein allmähliches Verhungern ihres Pferdes zu vermeiden.

Tabelle 4: Rationsgestaltung für alte Pferde mit PPID (Erhaltungsbedarf) (1,2,4,5,8,12,14,15)

BCS	Heu	Wasser, Ergänzungen	Kraffutter
< 4	1,7 (– 2,5) kg/100 kg KM, Gesamtzuckergehalt < 10 % TS, Fruktan < 5 % TS, Weiderestriktion (vor allem im Frühjahr und Spätherbst, nach Trockenheit/ Frost, keine Stoppelnachweide), Cobs bis 100 % bei Gewichtsverlust/ Zahnproblemen, in mind. 4 Mahlzeiten, eingeweicht	Wasser ad lib., Salzleckstein, Mineralfutter, ggf. Salzzulage bei starkem Schwitzen, *Vitamin C und Bierhefe (s. Grundsätzliches), Vitamin E 200 – 300 mg/100 kg KM	Getreidefreie Kraffutter, 0,25 – 0,5 (max. 1) kg/ 100 kg KM, max. 300 g/100 kg KM und Mahlzeit, nichtmelassierte Rübenschnitzel (trocken gewogen) 25 – 100 g/100 kg KM, Leinöl bis 20 ml/100 kg KM

*bei reduzierter Immunkompetenz, chronischen Entzündungen, Hautinfektionen, Hufabszessen und respiratorischen Problemen

Fütterungsbeispiel mit Kosten pro Tag:

magerer Pferdesenior (BCS 3) mit PPID und starken Zahnproblemen, aktuell 420 kg, Ziel 500 kg – 8 kg Cobs (5 kg Heu- + je 1,5 kg Mais- und Luzernecobs), 1 kg Reiskleie, 100 g Seniormineral unpelletiert, in 4 frisch eingeweichten Mahlzeiten → 8,53 €

Fazit

Für eine artgerechte Ernährung alter Pferde ist es notwendig, mit dem Pferdebesitzer den Ernährungszustand des Pferdes zu beurteilen und über Faustzahlen oder individuelle Rationsberechnung eine konkrete Anleitung zur Rationsgestaltung zu geben. Bei Zahnproblemen werden die täglich benötigte einzuweichende Menge Cobs und der damit verbundene Aufwand häufig unterschätzt. Regelmäßige Zahnkontrollen, Behandlung von Endoparasiten, Hufpflege und Lahmheitsuntersuchungen sowie die Überwachung der Insulinsensitivität und des ACTH-Spiegels

sind neben einer adäquaten Energie- und Nährstoffversorgung im verantwortungsvollen Umgang mit alten Pferden für deren Wohlbefinden unerlässlich.

Literatur

1. Merkblatt zur Haltung alter Pferde. Tierärztliche Vereinigung für Tierschutz e.V. (TVT), Dezember 2015, Merkblatt Nr. 144.
2. Mueller, MK, Sween, C, Frank, N, Paradis, MR. Survey of human-horse relationships and veterinary care for geriatric horses. *J Am Vet Med Assoc* 2018; 253(3): 337-45.
3. Argo, CM. Nutritional management of the older horse. *Vet Clin North Am Equine Pract* 2016; 32(2): 343-54.
4. Vervuert, I. Die tierärztliche Rolle in der Umsetzung der artgerechten Fütterung von Pferden. *Der Praktische Tierarzt* 2017; 98(7): 680-85.
5. Ralston, SL and Harris, PA: Nutritional considerations for aged horses. In: Geor, RJ, Harris, PA und Coenen, M, Herausgeber. *Equine applied and clinical Nutrition*, Edinburgh: Saunders Elsevier; 2013. S. 289-303.
6. Miller, MA, Moore, GE, Bertin, FR, Kritchevsky, JE. What's new in old horses? Postmortem diagnosis in mature and aged equids. *Vet. Pathol.* 2016; 53: 390-98
7. McGowan, CM and Ireland, JL. Welfare, quality of life and euthanasia of aged horses. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 2016; 32(2): 355-67.
8. Kamphues, J., Wolf, P., Eder, K., Iben, C., Kienzle, E., Coenen, M. et al. Beurteilung von Futtermitteln. *Supplemente zur Tierernährung für Studium und Praxis*, 12. Aufl. Hannover: Schaper; 2014, 324, 333.
9. Gesellschaft für Ernährungsphysiologie. Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung von Pferden. DLG-Verlag. 2014, 184.
10. Kienzle, E und Schramme, S. Beurteilung des Ernährungszustandes mittels Body Condition Scores und Gewichtsschätzung bei adulten Warmblutpferden. *Pferdeheilkunde* 2004; 20: 517-24.
11. Wyse, CA, McNie KA, Tannahil, VJ, Murray, JK, Love, S. Prevalence of obesity in riding horses in Scotland. *Vet Rec.* 2008, May 3; 162 (18): 590-1.
12. Kienzle, E und Bockhorni, T. Ernährung von Pferden mit Equine Pituitary Pars Intermedia Dysfunction („Cushing-Syndrom“) unter Pergolidtherapie. *Tierärztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere* 2018; 46(4): 249-56.
13. Meyer, H. und Coenen, M. *Pferdefütterung*, Enke 2014, 5. Aufl.: 167-168.
14. Jarvis, NG. Nutrition of the Aged Horse. *Vet Clin North Am Equine Pract* 2009; 25(1): 155-66.
15. Harris, PA, Ellis, AD, Fradinho, MJ, Jansson, A, Julliland, V, Luthersson, N, Santos, AS and Vervuert, I. Review: Feeding conserved forage to horses: recent advances and recommendations. *Animal.* 2017; 11(6): 958-67.
16. Di Filippo, PA, Vieira, V, Rondon, DA, Quirino, CR. Effect of dental correction on fecal fiber length in horses. *J Equine Vet Sci* 2018; 64: 77-80.

Abkürzungsverzeichnis

BCS: Body Condition Score; BU: Brustumfang; HU: Halsumfang; KM: Körpermasse; KU: Körperumfang; RB: Röhrrbeinumfang; Rfe: Rohfett; Rp: Rohprotein; TS: Trockensubstanz; WB: Widerristbandmaß

Kontakt

Dr. Kathrin Irgang, Tierärztliche Beratungspraxis für Ernährung, Berlin
info@tierarzt-ernaehrung.de

Haltung: Alte Pferde dürfen nicht zu kurz kommen!

Margit H. Zeitler-Feicht, Miriam Baumgartner

Technischen Universität München, Wissenschaftszentrum Weihenstephan, Lehrstuhl für ökologischen Landbau, AG Ethologie, Tierhaltung und Tierschutz

Einleitung

Alte Pferde stellen in Teilbereichen besondere Haltungsansprüche. Ursache hierfür sind Alterungsprozesse und/oder Erkrankungen wie Arthrose, altersbedingte Reduzierung des Seh- und Hörvermögens, reduzierte Reaktionsfähigkeit, Rangverlust sowie eine verminderte und/oder verlangsamte Nahrungsaufnahme. Deshalb müssen die Haltungsbedingungen so gestaltet werden, dass auch Pferde nicht zu kurz kommen. Sie sollten nicht nur ihre Bedürfnisse stressfrei befriedigen können, sondern auch Stimulation durch eine angereicherte Umwelt erfahren.

Verhaltensansprüche alter Pferde

Sozialkontakt: Auch für alte Pferde sind soziale Kontakte zu Artgenossen unerlässlich. Mindestanforderung ist ständiger Sicht-, Hör- und Geruchskontakt zu wenigstens einem anderen Pferd sowie ausreichend Umweltkontakt. Oftmals bevorzugen ältere Pferde einen Partner ähnlichen Alters. Deshalb sollte stets darauf geachtet werden, dass wenigstens zwei in etwa gleichaltrige Pferde zusammengehalten werden.

Bewegung: Der Organismus der Pferde ist darauf ausgelegt sich etwa 16 Stunden/Tag im Schritt vorwärts zu bewegen. Pferde haben somit einen Bedarf an täglich mehrstündiger Bewegung, um physisch und psychisch gesund zu bleiben. Regelmäßige, dem Alter angepasste Bewegung wirkt altersbedingtem Muskelabbau entgegen, erhält die Elastizität von Sehnen und Gelenken und dient der Gesunderhaltung des gesamten Organismus. Aus diesen Gründen sollte für alte Pferde in der Haltung für eine gleichmäßige, ruhige über den Tag verteilte Bewegung gesorgt werden.

Fütterung: Physisch (Verdauungstrakt) und psychisch (angeborenes Bedürfnis) sind Pferde auf eine kontinuierliche Aufnahme ballaststoffreicher Nahrung ausgelegt. Sie benötigen daher lange Fressdauern für ihre Gesundheit (Vermeidung von Koliken, Magengeschwüren) sowie für ihr psychisches Wohlbefinden (Entspannung, Stressabbau). Auch alte Pferden sollten sich in artgemäßer Weise mit der Futteraufnahme beschäftigen können (strukturiertes Futter, synchrone Aufnahme ≥ 12 Stunden/Tag, Fresspausen ≤ 4 Stunden).

Wasserversorgung: Eine ausreichende Wasseraufnahme in Trinkwasserqualität ist für die Gesunderhaltung alter Pferde von größter Bedeutung. Daher sollte Wasser zu jeder Tages- und Nachtzeit zur Verfügung stehen. Bevorzugt sind Trog- und Schwimmertränken (Fassungsvermögen ≥ 5 l) zu verwenden. Demgegenüber ist bei Zungen- oder Rohrventiltränken die Wasseraufnahme erschwert.

Liegen: Pferde ruhen im Stehen und im Liegen über den 24-Stunden-Tag verteilt. Unabhängig vom Alter ist für die Erlangung des Rapid Eye Movement (REM)- Schlafs die Einnahme einer liegenden Position für Pferde essenziell. Da der Ablege- und Aufstehvorgang für alte Tiere oftmals sehr anstrengend ist, sollte tierindividuell darauf geachtet werden, dass eine Liegefläche von $\geq (2 \times \text{Widerristhöhe (Wh)})^2$ vorhanden ist. Darüber hinaus muss bei alten Pferden der Boden über eine

hohe Trittfestigkeit verfügen und darf keinesfalls rutschig sein. Aus diesem Grund ist der Liegebereich gut einzustreuen und sollte zudem möglichst weich sein.

Witterungsschutz: Pferde vertragen Hitze, Kälte und Temperaturschwankungen bei entsprechender Konditionierung sehr gut. Im Alter reduzieren sich jedoch die thermoregulatorischen Fähigkeiten (McKeever et al. 2010). Deshalb ist bei alten Pferden besonders darauf zu achten, dass bei Freilandhaltung stets ein ausreichend groß bemessener Witterungsschutz zur Verfügung steht unter dem sie auch nachweislich Schutz finden. In der kalten Jahreszeit kann ein Eindecken sinnvoll sein. Nach Poncet et al. (2011) ist ein Umstallen auf Freilandhaltung für Pferde ab 25 Jahren nicht mehr ratsam.

Anforderungen an die Haltung alter Pferde

Gruppenhaltung

Gruppenhaltung erfüllt die artspezifischen Bedürfnisse der Pferde, insbesondere in Hinblick auf Sozialkontakt und Bewegungsfreiheit, besser als die Einzelhaltung. Nach dem BMEL (2009) können grundsätzlich alle Pferde, unabhängig von Alter, Rasse, Geschlecht und Nutzungsart in der Gruppe gehalten werden. Besonders der Offenstall mit getrennten Funktionsbereichen (Mehrraum-Außenlaufstall mit Auslauf, Aktiv-Stall, Bewegungsstall) ist unter bestimmten Voraussetzungen auch für alte Tiere gut geeignet. Durch die räumliche Trennung von Liege-, Fress- und Trinkbereich etc. werden die Pferde zur ständigen Fortbewegung angeregt. Dies kann bei alten Tieren hilfreich sein, um u.a. arthrotisch bedingte Gelenkprobleme zu mindern. Für sie sollten jedoch alle Einrichtungen zur Deckung der essenziellen Bedürfnisse (Tränke, Fütterungsvorrichtungen, Liegehalle) stets in leicht erreichbarer Nähe sein. Völlig ungeeignet ist es z.B. die Tränke als Bewegungsanreiz zu nehmen und diese weit entfernt vom Hauptaufenthaltsbereich zu installieren.

Wegen der altersbedingten Reduzierung der Reaktionsfähigkeit (Minderung des Seh- und Hörvermögens, Arthrose bedingte Veränderungen der Gelenke etc.) ist bei alten Pferden auf ein großzügig bemessenes Flächenangebot (Auslauf, Liege-, Fressbereich) und eine fachgerechte Konzeption der Anlage mit Rundläufen (keine Sackgassen, keine Engpässe, keine spitze Winkel) besonders zu achten. Nur dann können ältere Pferde auch ohne größere Probleme ihre rangabhängigen Individualabstände einhalten oder gefahrlos ausweichen. Empfohlen werden nach Zeitler-Feicht (2015) mindestens 80 – 120 m² Auslauffläche/Pferd. Nach neueren Befunden (Zeitler-Feicht und Muggenthaler 2013, Baumgartner et al. 2015) sind für die Liegefläche mindestens 4 x Wh² anzusetzen, anstatt des bisherigen Mindestmaßes mit 3 x Wh² (BMEL 2009).

Über das Gelingen einer Gruppenhaltung entscheidet neben Bauweise und Konzeption des Haltungssystems maßgeblich das Management. Daher empfehlen Poncet et al. (2011) eine spezifische Ausbildung für alle Personen, die nicht mehr genutzte und alte Pferde halten.

Gruppenzusammenstellung: Das Alter der Tiere darf bei der Gruppenzusammenstellung nicht unberücksichtigt bleiben. Alte Pferde sind den Drohungen von jüngeren Pferden häufig unterlegen. Sofortiger Handlungsbedarf besteht, wenn alte, gebrechliche Tiere von der Gruppe ausgegrenzt bzw. am Futterplatz wiederholt oder ohne aktive Gegenwehr verdrängt werden und sich alleine in Randbereiche der Gruppe zurückziehen. Deshalb sollte stets darauf geachtet werden, dass alte Pferde wenigsten einen gut vertrauten Partner in der Herde haben. Gemeinsam mit einem „Freund“ lässt sich der altersbedingte Rangverlust besser verkraften.

Integration und Separierungsmöglichkeiten: Sinnvoll ist, Pferde bereits zu Nutzungszeiten in Offenställen mit getrennten Funktionsbereichen zu halten. Auf diese Weise können sie auch nach der „Pensionierung“ in der gewohnten Herde verbleiben. Häufig werden Pferde jedoch erst im Alter aus der Einzelhaltung in eine Gruppe verbracht. Die Folge von langjähriger Boxenhaltung ist jedoch nicht selten eine mangelhafte Sozialkompetenz. Derartige Pferde sind daran zu erkennen, dass sie häufig abseits der Gruppe stehen, benachteiligt werden und/oder ambivalentes Verhalten zeigen,

wenn sie den Fütterungs- oder Liegebereich betreten wollen. Andere wiederum zeigen auffallend häufiges Aggressionsverhalten, bedingt durch Unsicherheit und Dauerstress. Pferde mit sozialen Defiziten müssen die soziale Kommunikation mit Artgenossen erst wieder „nachlernen“ und sind nur schwierig in eine Gruppe zu integrieren. Allgemein gilt deshalb bei alten Tieren, dass die Neueingliederung in eine Gruppe besonders behutsam und schrittweise mithilfe von gut sozialverträglichen Integrationspferden erfolgen sollte. Im Einzelfall ist eine Integration bei alten Pferden nicht mehr möglich und unter Tierschutzaspekten auch nicht mehr vertretbar.

Fütterungseinrichtungen: Da alte Pferde in der Regel langsamer als jüngere fressen, muss darauf geachtet werden, dass sie in Ruhe ihre tägliche Futtermenge aufnehmen können. Optimal für sie ist die uneingeschränkte Raufutteraufnahme in einem Separationsbereich. Die Eignung von Fressständen und Fütterungsautomaten ist von der Gewöhnung und von der Fähigkeit abhängig, sich in der Gruppe selbstsicher und angstfrei zu bewegen. Sparraufen mit Netzen oder Stäben sind für alte Pferde wegen der verlangsamten Nahrungsaufnahme bzw. altersbedingter Zahnprobleme ungeeignet, ebenso zeitgesteuerte Heurauen mit geringem Tier-Fressplatz-Verhältnis (< 2 Durchlässe pro Pferd).

Einzelhaltung

Für Pferde mit wenig Sozialerfahrung (langjährige Boxenhaltung, sozialer Deprivationsschaden) empfiehlt es sich, diese in einer Box, bevorzugt mit Paddock, aufzustallen und sie täglich mehrstündig mit wenigstens einem gut vertrauten Artgenossen auf die Koppel zu geben.

Die Paddockbox bietet im Gegensatz zur Gruppenhaltung Rückzugsmöglichkeiten. Dies kann für nicht gut sozialisierte Pferde eine Verringerung der Stressbelastung bedeuten. Zudem ist eine individuelle Versorgung mit speziellem Futter in der Box einfacher umzusetzen, als in der Gruppe. Voraussetzung hierfür ist allerdings, dass Box und Paddock ausreichend groß bemessen sind ($je \geq (2 \times Wh)^2$) sowie über reichlich Einstreu (weich, trittfest) verfügen.

Fazit: Entgegen der landläufigen Meinung stellen alte Pferde nicht geringe, sondern besonders hohe Anforderungen an Haltung und Management. Ursache hierfür sind altersbedingte Erkrankungen wie Arthrose, eine verminderte und/oder verlangsamte Nahrungsaufnahme sowie die Reduzierung der Reaktionsfähigkeit u.a.m. Auch im Alter ist dem Bedarf an sowie dem Bedürfnis nach langen Fressdauern, Sozialkontakt und täglich mehrstündiger Bewegung im entspannten Schritt Rechnung zu tragen.

Literatur

Die verwendete Literatur kann bei der Autorin erfragt werden.

Kontakt

Dr. Margit H. Zeitler-Feicht, Dr. Miriam Baumgartner, Technische Universität München, Wissenschaftszentrum Weihenstephan, AG Ethologie, Tierhaltung und Tierschutz
zeitler-feicht@wzw.tum.de

Wenn der Amtsschimmel altert: Das alte Pferd im amtstierärztlichen Focus

Friederike Hänsch¹, Sarah Winkelsett²

¹Veterinärdienst für Stadt und Landkreis Osnabrück, ²Fachbereich Veterinärwesen und Verbraucherschutz Landkreis Heidekreis, Bad Fallingbommel

Rechtsgrundlagen

Der § 2 des Tierschutzgesetzes besagt, dass jeder, der ein Tier hält, betreut oder es zu betreuen hat, dieses seiner Art und seinen Bedürfnissen entsprechend angemessen ernähren, pflegen und verhaltensgerecht unterzubringen hat. Darüber hinaus darf die Möglichkeit des Tieres zu artgemäßer Bewegung nicht so eingeschränkt werden, dass ihm dadurch Schmerzen oder vermeidbaren Leiden zugefügt werden. Ferner muss der Halter oder Betreuer über die erforderliche Sachkunde verfügen (1).

Zur Auslegung des § 2 werden die „Leitlinien zur Beurteilung von Pferdehaltungen unter Tierschutzgesichtspunkten“ (Leitlinie Pferdehaltung) als antizipiertes Sachverständigengutachten hinzugezogen, welche die Mindestanforderungen an eine tierschutzgerechte Pferdehaltung widerspiegeln (2).

Tierschutzanzeige

Der häufigste Anlass, der einen Amtstierarzt in Kontakt mit alten Pferden bringt, ist die Tierschutzanzeige. Nachbarn, Angehörige, Einsteller, Stallbesitzer oder auch praktische Tierärzte melden im Veterinäramt den Missstand eines älteren Pferdes in schlechtem Gesundheits- und/ oder Pflegezustand. Oftmals sind die betroffenen Pferde mager, haben schlecht gepflegte Hufe, struppiges, langes Fell, Zahnprobleme, „Alterskrankheiten“ oder werden alleine gehalten.

In der Regel wird jeder Tierschutzanzeige nachgegangen und das Pferd und die Haltungsbedingungen auf Grundlage der Leitlinien Pferdehaltung überprüft. Dazu wird das betroffene Pferd sowohl in seiner Umgebung in Augenschein genommen als auch der Ernährungs-, Gesundheits- und Pflegezustand näher inspiziert. In der Haltungseinrichtung wird u. a. ermittelt, ob dem Pferd ständig Wasser zur freien Verfügung steht, jedes Pferd eine weiche, trockene und saubere Liegefläche aufsuchen kann, ausreichend Boxenfläche/ Witterungsschutz vorhanden ist, Kontakt zu anderen Pferden möglich ist und die Haltungseinrichtung Verletzungsgefahren birgt.

Bei Bedarf werden Belege zu erfolgten tierärztlichen Behandlungen und Tätigkeiten durch einen Hufschmied eingesehen und ggf. Kontakt zu den entsprechenden Kollegen aufgenommen. Darüber hinaus werden Futtermittel und -vorräte angesehen, ein regelmäßiger Bezug kann z. B. durch Einsicht in Rechnungen nachvollzogen werden.

Im Gespräch werden Informationen zur täglichen Versorgung des Pferdes erfragt: wo und wie lange erfolgt ein Freilauf bei Boxenhaltung, wie häufig wird der Stall gesäubert oder die Wiese abgeäppelt, wie oft bekommt das Pferd welches Futter, welche medizinischen Maßnahmen werden durchgeführt, welche Personen sind mit der Versorgung/ Pflege beauftragt, etc.

Sollten Mängel in der Haltung oder im Zustand des Tieres festgestellt werden, so wird eine Behebung dieser mit dem geeignetsten und erst einmal mildesten Mittel angestrebt. Der Pferdehalter wird beraten, belehrt und es werden mündliche Anordnungen ausgesprochen. Aber auch schriftliche Anordnungen und Einleitungen von Ordnungswidrigkeits- oder gar Strafverfahren sind möglich, wenn mildere Mittel nicht greifen oder die festgestellten Mängel schwerwiegend sind.



Abb. 1: Alte Pferde in einem schlechten Gesundheitszustand sind oft Inhalt von Tierschutzanzeigen, wie auch dieses einzeln gehaltene alte Pony mit Stellungsanomalien der Hintergliedmaße

Euthanasie

Auch das Thema Euthanasie stellt immer wieder eine Herausforderung dar. Wenn eine tierschutzgerechte Versorgung des alten Pferdes aufwendig und teuer wird oder es einfach nicht mehr so genutzt werden kann, wie der Halter es gerne tun würde, dann entsteht in manchen Fällen der Gedanke, das Pferd zu euthanasieren. Diese Frage wird vor allem bei Pferden aufgeworfen, die im Equidenpass als „Nicht- Schlachtpferd“ eingetragen sind. Doch eine Euthanasie ist erst dann indiziert, wenn entsprechend schwerwiegende Gründe diese rechtfertigen. Praktisch involviert ist der Amtstierarzt häufiger im gegenteiligen Fall. Es kommt immer wieder vor, dass Halter ihr altes, krankes Pferd, bei welchem eine Euthanasie tierschutzrechtlich indiziert ist, nicht einschläfern lassen wollen, da sie sich nicht von ihm trennen können oder das Ausmaß des Zustandes nicht erfasst haben. In diesen Fällen wird versucht, den Haltern beratend zur Seite zu stehen und zu helfen, die Euthanasie zu veranlassen. Wenn eine Einsicht des Pferdehalters nicht erreicht werden kann, so ist es folglich auch möglich, die Euthanasie gegen seinen Willen anzuordnen und durchführen zu lassen.

Der Großteil der verstorbenen oder euthanasierten Pferde wird durch eine Tierkörperbeseitigungsanlage (TKBA) entsorgt. Es kommt vor, dass (oftmals alte) Pferde, die offensichtlich in einem sehr schlechten Zustand sind, in der TKBA durch einen Amtstierarzt in Augenschein genommen werden. Wenn sich Hinweise auf tierschutzrechtliche Verstöße ergeben, so wird diesen auch noch post mortem nachgegangen.

Einzelhaltung

Nicht nur bei alten Pferden, sondern in der Pferdehaltung allgemein kommt es immer noch vor, dass das Herdentier Pferd alleine gehalten wird. Bei Pferden höheren Alters sind einzeln gehaltene Tiere jedoch des Öfteren zu finden. Häufig sind sie „übrig“ geblieben, da die früheren Herdenmitglieder aufgrund eines ebenso hohen Alters und/ oder Krankheit schon verstorben sind. Die Halter, die oftmals auch schon älter sind und nicht mehr aktiv mit den Pferden etwas machen, möchten dann kein neues Pferd anschaffen, sich aber auch nicht von dem langjährigen Weggefährten trennen.

Hier ist es die Aufgabe des Amtstierarztes zu sensibilisieren, dass auch alte Pferde alleine leiden und das Wohl des Tieres an erster Stelle steht. Eine Vergesellschaftung alter Pferde will durchdacht und behutsam durchgeführt werden, ist aber genauso gut möglich und erfolgsversprechend wie die

Vergesellschaftung jüngerer Tiere. Es gibt mittlerweile viele Pferdepensionen mit „Rentnerherden“ oder die Möglichkeit ein Beistellpferd in der eigenen Haltung aufzunehmen. Die Unterbringung auf einem Ganderhof ist ebenso eine Option.



Abb. 2: Auch post mortem können tierschutzrechtliche Verstöße noch geahndet werden, wenn z. B. Kadaver in der TKBA auffällig sind

Equidenpass

Im Rahmen der tierschutzrechtlichen Überprüfungen fallen auch heute immer noch vorzugsweise alte Pferde älterer Halter auf, die keinen Equidenpass besitzen. Die Einsicht, dass auch diese Tiere einen Pass benötigen ist meistens nur begrenzt vorhanden, werden sie doch oftmals weder aktiv genutzt noch sollen sie den Haltungsbetrieb mehr lebend verlassen. Wenn bei Passausstellung eine Eintragung als „Nicht- Schlachtpferd“ erfolgt/ erfolgen muss, kann es darüber hinaus zu Unmut beim Halter führen, wenn dieser nicht mehr frei entscheiden kann, wann das alte Pferd geschlachtet werden soll.

Literatur

1. Tierschutzgesetz in der Fassung der Bekanntmachung vom 18. Mai 2006 (BGBl. I S. 1206, 1313), das zuletzt durch Artikel 1 des Gesetzes vom 17. Dezember 2018 (BGBl. I S. 2586) geändert worden ist
2. Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz: Leitlinien zur Beurteilung von Pferdehaltungen unter Tierschutzgesichtspunkten vom 9. Juni 2009

Kontakt

Dr. Friederike Hänsch, FD 10- Veterinärdienst für Stadt und Landkreis Osnabrück, Osnabrück
haensch@lks.de

Gnadenhöfe - Chancen und Risiken

Sarah Winkelsett¹, Friederike Hänsch²

¹Fachbereich Veterinärwesen und Verbraucherschutz Landkreis Heidekreis, Bad Fallingbommel;

²Veterinärdienst für Stadt und Landkreis Osnabrück, Osnabrück

Einleitung

Sowohl in der tierärztlichen Praxis als auch im amtstierärztlichen Alltag hat der wachsende Anteil geriatrischer Patienten eine zunehmende Bedeutung. Zahlreiche individuelle Faktoren beeinflussen die Lebensqualität alter Pferde. In diesem Zusammenhang spielen die Haltung, Pflege, bedarfsgerechte Versorgung sowie die Behandlung altersbedingt auftretender Krankheiten eine zentrale Rolle. Die Betreuung geriatrischer Pferde stellt in vielen Fällen fachlich wie finanziell eine Herausforderung dar.



Abb. 1: Geriatrisches Pony mit hochgradiger Hufrehe

Rechtliche Einordnung

Gemäß § 11 Abs. 3 i.V.m. Abs. 1 Satz 1 Nr. 3 TierSchG bedarf, wer Tiere für andere in einem Tierheim oder in einer ähnlichen Einrichtung halten will, der Erlaubnis der zuständigen Behörde. Ein Tierheim ist eine Einrichtung, deren wesentliche Aufgabe die Aufnahme, pflegliche Unterbringung und ggf. Weitervermittlung von Fund- und Abgabepferden ist (1). Eine Einrichtung ist nur dann einem Tierheim ähnlich, wenn die Gründe, die für die Erlaubnispflicht der Tierhaltung in einem Tierheim sprechen, bei der Einrichtung in gleicher Weise bestehen (2). Charakteristisch ist, dass die Tiere von ihren Eigentümern, Haltern oder Betreuern für eine gewisse Zeit untergebracht und später wieder abgeholt werden.

Demnach fallen klassische Gnadenhöfe, die Pferden als endgültige Auffangstation dienen und die Tiere bis zu Tod halten und pflegen, bei denen also keine vorübergehende Unterbringung mit anschließender Vermittlung stattfindet, nicht unter die Erlaubnispflicht (3).

In der amtstierärztlichen Praxis erfolgt daher in jedem Fall eine individuelle Prüfung, ob es sich um eine erlaubnispflichtige Einrichtung (ggf. auch gemäß § 11 Abs. 1 Nr. 4 „zur Schau stellen“ oder § 11 Abs. 1 Nr. 8 „gewerbsmäßiges Halten“) handelt.

Überwachungspraxis

Die Anzahl der Gnadenhöfe, welche kostendeckend geführt werden und nicht der amtstierärztlichen Überwachungspflicht unterliegen ist sehr gering. Als bekanntestes Beispiel für einen klassischen Gnadenhof wäre das in Österreich geführte „Gut Aiderbichel“ zu nennen.

In der Praxis zeigen sich jedoch auch Fälle, bei denen Tiere durch Animal Hoarder vom Rettertyp gesammelt werden. In diesen Fällen fehlt es neben der notwendigen objektiven Einschätzung des Gesundheitszustandes vielmals auch an personellen wie finanziellen Mitteln zur fachgerechten palliativen Versorgung der Tiere. Derartige Fälle werden häufig erst durch Anzeigen amtlich bekannt und gehen oft mit einer stark emotional geprägten Einschätzung der Anzeigenden und einem erheblichen Arbeitsaufwand für die Überwachungsbehörden einher. In diesen Fällen ist eine enge Zusammenarbeit zwischen den betreuenden Tierärzten und Amtstierärzten notwendig. Sind die Tierhalter kooperativ erfolgt häufig eine Entbindung von der Schweigepflicht, was die Kommunikation deutlich vereinfacht. In Fällen mangelnder Kooperationsbereitschaft werden Behandlungsnachweise und Untersuchungsberichte im Rahmen von Anordnungen gem. § 16 a TierSchG eingefordert. In leichteren Fällen kann im Rahmen einer Bestandsreduktion ein akzeptabler Zustand für die verbleibenden Tiere erschaffen werden. Bei Feststellung schwerwiegender Tierschutzvergehen werden neben verwaltungsrechtlichen auch ordnungsrechtliche oder strafprozessuale Maßnahmen ergriffen.



Abb. 2: Saggitalschnitt Vordergliedmaße, Pathologischer Bericht des LAVES

Klassische Tierheime oder ähnliche Einrichtungen für die Unterbringung von Pferden sind nur in geringem Umfang vorhanden, so dass die Behörden insbesondere bei vorübergehenden oder dauerhaften Fortnahmen Probleme haben geeignete Unterbringungsmöglichkeiten zu finden.

Die Unterbringung fortgenommener Tiere in Betrieben mit gültiger § 11 Erlaubnis ist in der Regel unproblematischer, da hier die infrastrukturellen und personellen Voraussetzungen vorliegen um alte, pflegebedürftige und teilweise kranke Tiere fachgerecht zu versorgen und keine gesonderte behördliche Überprüfung des Bestimmungsbetriebes notwendig ist.

Literatur

1. Hirt/Maisack/Moritz, TierschG, 3. Aufl., § 11 TierschG Rn. 6
2. BVerwG, Urteil vom 23.10.2008 – 7 C 9.08, NVwZ-RR 2009, 102identifizier_0_31065
3. VG Stuttgart, Urteil vom 09.01.2003 – 4 K 1696/02, NuR 2003, 710; Hirt/Maisack/Moritz, TierschG, 3. Aufl., § 11 TierschG Rn. 6

Kontakt

Dr. Sarah Winkelset, Fachbereich Veterinärwesen und Verbraucherschutz, Bad Fallingbostel
s.winkelset@heidekreis.de

Spannungsfeld Euthanasie bei alten Pferden: Gründe für das Einschläfern

Karsten Feige¹, Peter Kunzmann², Sabine Kästner¹

¹Klinik für Pferde, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover; ²Institut für Tierhygiene, Tierschutz und Nutztierethologie, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

Einleitung

Die Heilung von Leiden und Krankheiten ist ein zentraler Bestandteil der tierärztlichen Tätigkeit und so in der Berufsordnung verankert. Darüber hinaus gehört die Tötung von Tieren zum Aufgabenfeld des Tierarztes, die ein besonders verantwortungsvolles Vorgehen erfordert und die nicht selten zu Konflikten unterschiedlicher Art führt. Im Rahmen der Tötungsentscheidung sind neben dem rein veterinärmedizinischen Standpunkt, der beispielsweise die Indikation und die Wahl eines geeigneten Betäubungs- und Tötungsverfahrens beinhaltet auch juristische und ethische Aspekte zu berücksichtigen. Im Folgenden soll die Entscheidungsfindung zur Euthanasie am Beispiel unterschiedlicher Grundvoraussetzungen in Bezug auf das „alte Pferd“ dargestellt werden.

Veterinärmedizinische, juristische und ethische Aspekte der Tötungsentscheidung

Die veterinärmedizinische Indikation zur Euthanasie wird im Tierschutzgesetz vermeintlich klar vorgegeben, in dem dort ein „vernünftiger Grund“ für die Euthanasie gefordert wird (§ 17 Nr. 1 TSchG), ohne dass dieser „vernünftige Grund“ jedoch eindeutig definiert wird. Grundsätzlich gelten die Lebensmittelgewinnung bei Pferden mit Schlachtierstatus und die Bekämpfung einer auf Pferde übertragbaren Seuche als vernünftige Gründe.

Darüber hinaus wird im Tierschutzgesetz angegeben, dass eine Euthanasie angezeigt ist, wenn ein Weiterleben nur mit „nicht behebbaren Leiden und Schmerzen“ verbunden ist (§ 3 Nr. 2 TSchG). Aus veterinärmedizinischer Sicht kann daraus abgeleitet werden, dass die Euthanasie eines Pferdes angezeigt ist, wenn eine Erkrankung mit einer infausten Prognose verbunden ist (z.B. Festliegen nach Schädelbasis- oder Wirbelfraktur, offene Frakturen von Radius und Tibia). Entsprechend dieser Herleitung ist das „hohe“ Alter allein kein vernünftiger Grund, der die Euthanasie rechtfertigt. Vor diesem Hintergrund ergeben sich verschiedene Szenarien, die am Beispiel der Kolik zu einer Tötungsentscheidung führen können:

Wird ein „altes“ Pferd mit einer Kolik vorgestellt und unter Berücksichtigung aller klinischen Befunde die Prognose *quoad vitam* schlecht bis infaust gestellt, ist die Entscheidung zur Euthanasie unabhängig vom Alter gerechtfertigt oder sogar notwendig, da mit großer Sicherheit davon ausgegangen werden kann, dass es sich um ein nicht behebbares Leiden handelt. Die Tötung ist in diesem Fall „aus veterinärmedizinischer Sicht kunstgerecht und pflichtgemäß“.

Anders sieht dies aus, wenn unter Berücksichtigung aller klinischen Befunde eine Kolikoperation angezeigt ist. Das Schutzziel im deutschen Tierschutzrecht, „Leben“ zu schützen, schließt ein, dass eine Euthanasie nicht erfolgen darf, wenn es sich um behebbare Schmerzen oder Leiden handelt. In Bezug auf Pferde mit einer Kolik muss eine solche Situation grundsätzlich angenommen werden, wenn keine schlechte oder infauste Prognose besteht. Aus medizinischer Sicht kann dieser Forderung weitgehend entsprochen werden. Kolikoperationen sind heute entsprechend aktuellen wissenschaftlichen Arbeiten mit einer Erfolgsquote von ca. 80% (Entlassung aus der Klinik) verbunden. Langzeitüberlebensraten (1 Jahr) werden im Mittel mit 60% bis 70% angegeben. Nach Abheilung erreichen nahezu 90% der Pferde wieder ihr ursprüngliches Leistungsniveau. Eine Kolikoperation ist also generell geeignet um entsprechend der Forderung des Tierschutzgesetzes Schmerzen und Leiden zu beheben und entsprechend der tierärztlichen Berufsordnung Leiden und

Krankheiten der Tiere zu heilen. Vor dem Hintergrund des Tierschutzgesetzes und dessen moralischer Begründung ist dementsprechend unabhängig vom Alter die Durchführung einer Kolikoperation gefordert.

Eine Kolikoperation ist aber auch eine intensivmedizinische Maßnahme, die zwangsläufig mit einem hohen finanziellen Aufwand verbunden ist, den Pferdebesitzer oft nicht tragen wollen oder können. Insbesondere dann nicht, wenn es sich um ältere Pferde handelt. Genau an dieser Stelle entsteht die weiter oben formulierte Konflikt-Situation. Der Tierarzt gerät hier in einen Konflikt zwischen einer moralischen und rechtlichen Verpflichtung gegenüber dem Tier und dem Interesse des Tierbesitzers, der auf Grund der Krankheit und des Alters einer Operation nicht zustimmt. Hier muss die Frage gestellt werden, ob es dem Tierarzt zuzumuten ist, eine Operation durchzuführen, wenn die Kosten vom Tierbesitzer nicht getragen werden? Dies wäre eine sehr weite Auslegung der Verpflichtung von Tierärzten, eine „fachgerechte Erstversorgung“ zu gewähren. Wenn es dem Tierarzt nicht zuzumuten ist, die Kosten für eine adäquate Behandlung selber zu tragen, entsteht auch keine Verpflichtung, eine Kolikoperation durchzuführen. Unter diesen Voraussetzungen ist das Leiden des Pferdes nicht behebbar und die schmerzlose Tötung zur Beendigung des tierlichen Leidens zu rechtfertigen. Auch diese Argumentation kommt ohne Berücksichtigung des Alters des Pferdes aus.

Ergänzend soll hier auf die Forderung des Tierschutzgesetzes (§ 2 Nr. 1) gegenüber dem Tierbesitzer hingewiesen werden, wonach jeder, der ein Tier hält „... es seiner Art und seinen Bedürfnissen entsprechend angemessen ernähren, pflegen und unterbringen ...“ muss. Dies schließt „medizinisch indizierte Heilbehandlungsmaßnahmen“ ein. Wird also ein Pferd euthanasiert, weil der Tierbesitzer nicht gewillt oder in der Lage ist, für sein Pferd entsprechend diesen Vorgaben zu sorgen, realisiert sich unter Umständen ein Verstoß gegen § 2 Nr. 1 des Tierschutzgesetzes.

Vor dem Hintergrund dieser Vorgaben ist das Einschläfern eines Pferdes, dass auf Grund seines Alters „nicht mehr gewollt wird“ nicht möglich. Diese Haltung des Gesetzgebers ist unstrittig. Einschränkend kann hier nur die gesetzliche Forderung der „angemessenen“ Ernährung, Pflege und Unterbringung ins Feld geführt werden. Übertragen auf „angemessene“ medizinisch indizierte Heilbehandlungsmaßnahmen kann dementsprechend eine Güterabwägung erfolgen, wenn Behandlungen sehr aufwändig und teuer sind.

Als Grundlage für eine solche Güterabwägung kann ein Beurteilungsschema verwendet werden, das die Lebensspanne eines Tieres in ein projiziertes Leben einteilt. Das erwartbare zukünftige Leben wird dabei ins Verhältnis zum bisherigen Leben gesetzt. Im Weiteren fließt in dieses Beurteilungsschema die Würde des Tieres ein. Die Entscheidung zur Euthanasie ist danach umso leichter, je positiver das bisher gelebte Leben war und je negativer die Zukunftsperspektive ist, z. B. gekennzeichnet durch Schmerz, Leiden und Schäden. Die Euthanasie eines alten Pferdes mit einem „erfüllten“ Leben und einer zu erwartenden Verschlechterung der Lebensqualität ist demnach moralisch kaum bedenklich. Das Töten ist in diesem Sinne als Wertschätzung zu sehen.

Ein gegensätzliches Szenario ist das fehlende Einverständnis eines Tierbesitzers zur Euthanasie bei gegebenem „vernünftigen Grund“, d.h. bei Vorliegen von „nicht behebbaren Leiden und Schmerzen“. Gerade beim alten Pferd mit einem unter Umständen hohen ideellen Wert ist hier eine besondere Herausforderung für den Tierarzt gegeben. Liegt ein Krankheitsbild mit einer infausten Prognose vor, muss es in diesen Fällen das Ziel sein, eine von Tierarzt und Tierbesitzer gemeinsame Entscheidung zur Euthanasie auf Basis des Krankheitsverlaufes und der zu erwartenden Prognose zu treffen. Gelingt es nicht eine Übereinstimmung herbeizuführen und ist ein Weiterleben eines Tieres nur noch unter erheblichen, nicht behebbaren Leiden und Schmerzen möglich, besteht eine Verpflichtung zur Tötung des Tieres. Diese Pflicht kann entweder durch den Tierarzt selbst wahrgenommen werden, sie kann aber auch durch eine Meldung an das staatliche Veterinäramt weitergegeben werden. Von dort kann eine Tötung umgehend angeordnet werden.

Schlussfolgerung

Das Alter allein stellt keine Indikation zur Euthanasie dar. Der Tierarzt ist also insbesondere beim alten Pferd gefordert, bei der Tötungsentscheidung einerseits die medizinische Indikation so genau wie möglich zu beurteilen und andererseits die Interessen des Tierbesitzers sowie die aus dem Tierschutzgesetz und der Berufsordnung erwachsenden Forderungen gegenüber dem Pferd mit größtmöglicher Verantwortung wahrzunehmen.

Literatur

1. Fahrion S, Dürr M, Doherr G, Hartnack S, Kunzmann P. Das Töten und die Würde von Tieren: ein Problem für Tierärzte? Schweiz. Arch. Tierheilk. 2011; 153 (5): 209-214.
2. Luy J, Deegen E, Grabner A, Hertsch B. Tötung von Equiden. Pferdeheilkunde 2006; 22 (6): 795-802
3. Fürst A. Euthanasie des Pferdes. Pferdespiegel 2009 (1): 21-25
4. Hänsch F, Heilkenbrinker-Schäfer C, Hoffmann C, Machold U. Betäuben und Töten von Pferden. Tierärztliche Vereinigung für Tierschutz 2015: 1-9
5. Feige K, Kunzmann P. Kolikoperation: Ja oder nein. Proceedings Schleswig Holsteinischer Tierärztetag. 2018

Kontakt

Prof. Dr. Karsten Feige, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Klinik für Pferde, Hannover
Karsten.Feige@tiho-hannover.de

Was verbirgt die Haut?

Jule Kristin Michler

Institut für Veterinär-Anatomie, Leipzig

Für das Verständnis von Krankheiten, deren Pathogenese und letztendlich eine erfolgreiche Behandlung des „Patienten Haut“ ist die Kenntnis der anatomischen und histologischen Grundlagen unbedingte Voraussetzung. Hierzu gehören insbesondere die lokalen und tierartspezifischen Charakteristika.

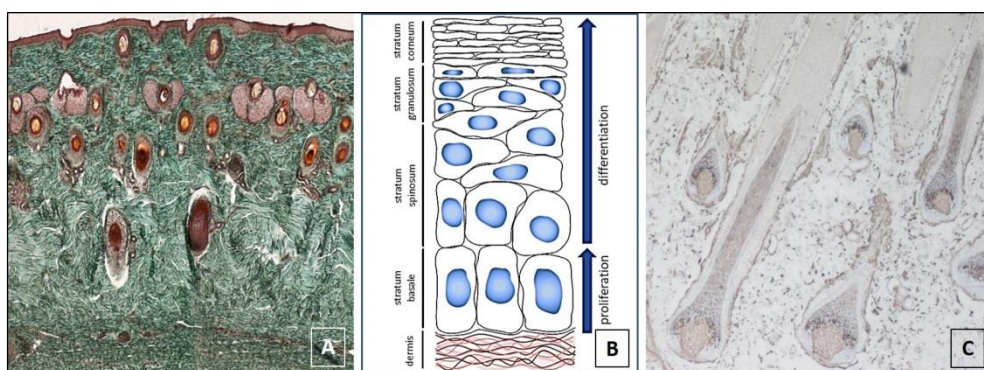


Abb. 1: (A) Masson-Goldner-Färbung aus der Regio frontalis, (B) Schema zur Proliferation epidermaler Zellen, (C) immunhistochemische Darstellung von Mähnenhaarfollikeln.

Die Pferdehaut enthält als Anhangsorgane vorwiegend Primärhaarfollikel und mit diesen assoziierte Schweiß- und Talgdrüsen (1). Wissen um deren Verteilung und der sekretorischen Aktivität beim sportlich genutzten Partner Pferd können beispielsweise bei der Blickdiagnose in Sachen Sattelanpassung und damit vergesellschafteten Problemen helfen.

Überdies steht die Haut in direktem Bezug zu den Faszien. Dieser lange bekannte aber oftmals wenig differenziert betrachtete Zusammenhang verschiedener Bindegewebe wird unter Klärung der Fachbegriffe rekapituliert. Das Bindegewebe der Pferdehaut ist arttypisch organisiert, wobei sich in den tieferen Schichten der Dermis und bezüglich der Verankerung der Langhaarfollikel einige Besonderheiten verbergen.

Was gibt's Neues? Gibt's was Neues?

In zwei Bereichen rund um den Grundbauplan Haut finden sich erhöhte Forschungsaktivitäten. Dies umfasst zum einen Erkenntnisse aus molekularbiologischen Untersuchungen der Haut im Kontext der Wundheilungsstörung, die insbesondere an der distalen Gliedmaße durch die Bildung von überschießendem Granulationsgewebe (EGT, engl. *exuberant granulation tissue*) erschwert wird. Bisher wurden bekannte Fakten von anderen Säugern lediglich als allgemeingültig übertragen; mit immer besseren Methoden wird aber aktuell und zukünftig auch vermehrt tierartspezifisch geforscht. An Therapieansätzen für das erwähnte equine EGT mangelt es nicht, aber warum die ursächlichen Fibroblasten derart überschießend proliferieren, ist allenfalls in Teilen geklärt. Mit der Erforschung von Normwerten für die Proliferation basaler Keratinozyten sowie typischer Differenzierungsmarker (K10, Kadherine, Involucrin), die sich als Bezugswerte gesunder Haut

eignen, und was sich an deren Expression in Wundgebieten ändert, werden wichtige Puzzleteile zum besseren Verständnis zusammengetragen (2,3).

Ebenfalls sehr aktuelle Bemühungen, die auch im Zusammenhang mit der Wundheilung beleuchtet wurden, gibt es zum Mikrobiom der Pferdehaut. Studien, die neueste Techniken wie das *next generation sequencing* anwenden, generieren viele Daten, die in interdisziplinären Ansätzen interpretiert werden müssen, denn auch in der Mikrobiologie ist noch lange nicht jedes Rätsel gelöst. Es wurde gezeigt, dass sich die equine Mikrobiota signifikant von der humanen unterscheidet und dass sie aktuell überwiegend weder benannt noch klassifiziert ist. Definitiv gezeigt wurde aber, dass sich ihre Zusammensetzung transient während der Wundheilung ändert, um dann nach abgeschlossener Heilung in aller Regel wieder zum Ausgangsstatus zurückzukehren. Hierbei handelt es sich um ein Wiedererstarken der bereits vorhandenen, aber durch die physiologische Entzündung unterdrückten Hautkommensalen, statt einer Neubesiedelung. Für Verbände an der distalen Gliedmaße wird seit langem diskutiert, ob und wie sie in diesen Prozess eingreifen oder ihn begünstigen (4).

Mit der Einordnung von kürzlich erhobenen Forschungsergebnissen zu den bekannten Fakten wird ein aktueller Überblick im Gebiet dermalen Grundlagenforschung gegeben.

Literatur

1. Meyer W: Hair follicles in domesticated mammals with comparison to laboratory animals and humans. In: Mecklenburg L, Linek M, Tobin DJ Herausgeber. Hair loss disorders in domestic animals. 1. Aufl. New York: Wiley-Blackwell; 2009. S. 43-64.
2. Jorgensen E, Lazzarini G, Pirone A, Jacobsen S, Miragliotta V. Normal microscopic anatomy of equine body and limb skin: A morphological and immunohistochemical study. *Annals Anat.* 2018; 2018:205-212.
3. Jorgensen E, Pirone A, Lazzarini G, Jacobsen S, Miragliotta V. Epithelial-to-mesenchymal transition and keratinocyte differentiation in equine experimental body and limb wounds healing by second intention. *Annals Anat.* 2018; 2018:205-212.
4. Kamus LJ, Theoret C, Costa MC. Use of next generation sequencing to investigate the microbiota of experimentally induced wounds and effect of bandaging in horses. *PLoS ONE.* 2018;13(11): e0206989.

Kontakt

Dr. Jule Michler, Institut für Veterinär-Anatomie, Leipzig
jule.michler@vetmed.uni-leipzig.de

Versorgung mit Kupfer, Zink und Selen, was ist zu beachten?

Franziska Bockisch

Institut für Tierernährung, Ernährungsschäden und Diätetik; Universität Leipzig

Für die Beurteilung einer bedarfsdeckenden Versorgung mit den Spurenelementen Kupfer (Cu), Zink (Zn) und Selen (Se) in der täglichen Praxis ist die Rationsüberprüfung das Mittel der Wahl. Aktuell existieren für Cu, Zn und Se folgende Versorgungsempfehlungen für Pferde (1):

Tabelle 1: Empfehlungen zur täglichen Versorgung mit Se, Cu und Zn in mg/kg^{0,75} Körpermasse (KM)

	Se	Cu	Zn
Erhaltung	0,010	1,0	4,0
Erhaltung + Leistung (Wachstum, Arbeit, Reproduktion)	0,015	1,0 ¹⁾	4,5
Bedarf Pferd 600 kg pro Tag (mg)	1,2 – 1,8	121	485 - 546

¹⁾Wachstums 1,1 mg/kg^{0,75} KM

Zur Einschätzung der Spurenelementversorgung über die Fütterung ist zunächst eine Abschätzung von Menge und Zusammensetzung der aufgenommenen Futtermittel zu erstellen. Die Inhaltsstoffe kommerzieller Futtermitteln können anhand der Deklaration erfasst werden. Für die Grund- bzw. Einzelfuttermittel, wie Heu, Hafer u.a., können Schätzwerte, z.B. aus Futterwerttabellen der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft (DLG) oder Ergebnisse aus Untersuchungen hofeigener Futtermittel herangezogen werden. Aus der Tagesration wird die tägliche Aufnahme an Cu, Zn und Se errechnet und mit dem Bedarf, welcher in Abhängigkeit von KM und Leistung des Pferdes abgeleitet wird, verglichen. Über- und Unterversorgungen können so schnell aufgedeckt und ungeeignete Futtermittel ersetzt oder Fütterungsmengen angepasst werden. Hinweise auf eine unausgewogene Versorgung können zudem klinische Vorberichte liefern, z.B. Haar- und Hautveränderung.

Kupfer und Zink

Die Cu-Gehalte auf der Weide schwanken zwischen 2-15 mg/kg TS (Zielwert 7-12 mg/kg TS). Auch bei rationierter Heufütterung kann Cu knapp sein, wenn nicht mind. 8 mg/kg TS im Raufutter enthalten sind. Die mittleren Cu-gehalte im Heu (n=309) lagen 2018 bei 4,9 mg/kg TS (2). Daher wird eine Cu-Supplementierung im Stall und auf der Weide empfohlen. Marginale Cu-Gehalte in Rationen für tragende Stuten werden mit Osteochondrose, Osteodysgenese und erworbenen Sehnenkontrakturen der oberflächlichen und tiefen Beugesehnen bei Fohlen unmittelbar nach der Geburt in Verbindung gebracht. Einer bedarfsdeckenden Versorgung tragender Stuten kommt daher eine besondere Bedeutung zu. Pferde sind hohen Cu-Gaben gegenüber tolerant. Die maximal tolerierbare Konzentration für Pferde wird mit 250 mg Cu/kg TS Futter angegeben (3). Dies entspräche einer Bedarfsüberschreitung um den Faktor 23.

Die Schwankungsbreite für Zn auf der Weide liegt bei 15-50 mg/kg TS. Eine bedarfsdeckende Zn-Versorgung kann daher auch bei 24 h Weidehaltung als ungewiss angesehen werden, da Zn-Gehalte >35 mg/kg TS im Weideaufwuchs zur Deckung des Bedarfs notwendig sind. Sicherheitszulagen in Form Zn-haltiger Weide-Mineralfutter für Pferde sind daher sinnvoll. Bei rationierter Heufütterung sind Gehalte >40 mg/kg TS im Raufutter angezeigt. Im Jahr 2018 lag der mittlere Zn-Gehalt im Heu (n=309) nur bei 25 mg Zn/kg TS (2). Auch im Stall ist eine Zn-

Supplementierung daher empfehlenswert. Hohen Zn-Gaben gegenüber sind Pferde relativ tolerant. Die maximal tolerierbare Konzentration für Pferde wird mit 500 mg Zn/kg TS Futter angegeben (3). Das entspräche einer Bedarfsüberschreitung um den Faktor 11. Zu beachten ist jedoch, das Zn und Cu im Dünndarm um Bindungsstellen konkurrieren, was bei unreflektiert hohen Gaben eines der Elemente die Absorption des anderen negativ beeinflussen kann und einen sekundären Spurenelementmangel möglich macht. In der Diätetik kann jedoch eine bedarfsüberschreitende Zulage von Zn vereinzelt gerechtfertigt sein. Für Patienten im akuten Hufrehschub sind kurweise für 4-6 Wochen Zn-Zulagen iHv. 100 mg/100 kg KM gerechtfertigt, um die Integrität des Hufes zu unterstützen. Auch bei entzündlichen Hauterkrankungen zur Verbesserung der Hautregeneration und bei einer PPID (Pituitary Pars Intermedia Dysfunction) zur Unterstützung des Immunsystems können bis zu 200 mg Zn/100 kg KM gegeben werden.

Selen

Deutschland ist Se-Mangelgebiet. Durchschnittliche Se-Gehalte im Grün- und Trockengrünfutter < 0,03 mg/kg TS sind nicht selten (Zielwert 0,15 mg/kg TS). Da Selen in hohen Mengen toxisch ist, sollte die Aufnahme eng am Bedarf bemessen sein. Bei einer Überversorgung mit Se kommt es im Körper zu einem Austausch von Se gegen Schwefel. Daraus resultierende Störungen der Keratinbildung manifestieren sich bei chronischer Se-Überversorgung in Veränderungen des Haarkleides und brüchigem Hufhorn. Chronische Se-Vergiftungen mit Kronsauementzündung, Hornspalten und Laminitis sind bei einer täglichen Aufnahme von 2-5 mg Se/kg TS zu erwarten (dies entspricht einer täglichen Se-Aufnahme von 24-60 mg für ein 600 kg schweres Pferd). Se-Vergiftungsfälle sind meist auf eine Fehlmischung im Futter oder auf unreflektiert hohe parenterale Se-Gaben zurückzuführen.

Ergänzen, aber wie? - Anorganisch oder organisch?

In mineralisierten Futtermitteln für Pferde werden anorganische (z.B. Oxide, Sulfate) und organische Verbindungen (inaktivierte Se-Hefen, Aminosäure-Zn-/Cu-Chelate) eingesetzt. Für Oxide (z.B. Zn-Oxid) ist die Studienlage sehr divergent. Zum Teil werden die Oxide als weniger geeignete Quelle beschrieben. Für die Ergänzung von Zn und Cu sind Sulfate und organische Verbindungen gleichermaßen geeignet (4,5). Bei den Se-Verbindungen werden die anorganischen (z.B. Natriumselenit) langfristig tendenziell besser in die funktionellen Se-haltigen Enzyme (z.B. Glutathionperoxidase) eingebaut, die organischen Se-Quellen führen kurzfristig zu einem tendenziell schnelleren Se-Anstieg im Plasma (6). Da ein an Aminosäuren gekoppeltes Se eher unspezifisch in Proteine eingebaut wird, ist zumindest die Gefahr einer akuten Se-Intoxikation durch Fehlmischungen mit organischen Se-Verbindungen im Vergleich zu Fehlmischungen mit anorganischen Se-Quellen als geringer einzuschätzen.

Häufige Fehler in der Rationsgestaltung

Zur Auswertung kamen 50 Fütterungsanfragen aus den Jahren 2018-2019, die an das Institut für Tierernährung (Leipzig) gestellt wurden. Einige Rationen stellten mit bis zu 12 teils mineralisierten Komponenten einen regelrechten „Futtercocktail“ dar. Alle verwendeten mineralisierten Futtermittel enthielten eine anorganische Verbindung für den Zusatz von Zn, Se und Cu. In vielen kommerziellen Futtermitteln werden mittlerweile auch organische Spurenelementverbindung zugesetzt. Von den hier verwendeten Ergänzungs- und Mineralfuttermitteln enthielten 59% zusätzlich Zn-Chelate, 51% Cu-Chelate und 43% enthielten neben Na-Selenit auch inaktivierte Se-Hefen. Die Versorgung mit Zn, Se und Cu stellte sich wie folgt dar:

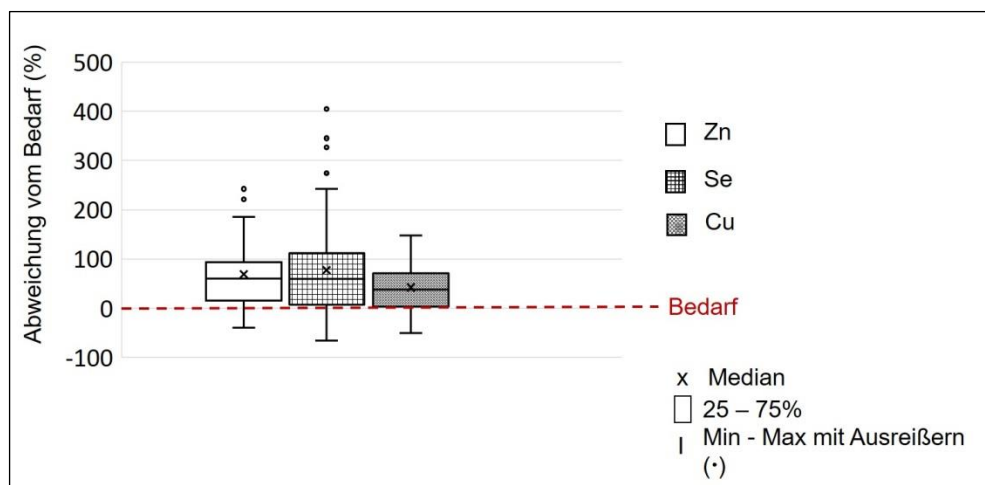


Abb. 1: Spurenelementversorgung in der Fütterungsberatung (N=50 Rationsüberprüfungen)

Sofern ein Zn-, Se-, Cu-haltiges Mineral- oder Ergänzungsfuttermittel (Fütterungsmenge nach Herstellerangabe) verwendet wurde, waren die Pferde bei equidengerechter Raufuttermenge im Mittel ausreichend versorgt. Die Überversorgungen mit Cu und Zn lagen im unkritischen Bereich. Unterversorgungen entstanden besonders bei Rationen mit knapper Raufuttermenge, die nicht durch ein geeignetes Mineralfutter ergänzt wurden. Aber auch bei Fütterung der Mindestempfehlung für Raufutter von 1,5 kg TS/100 kg KM war die Spurenelementversorgung knapp, wenn kein Mineralfutter gegeben wurde. Unsicherheiten bestanden besonders in der Versorgung mit Se, da die Se-Zufuhr über das Heu i.d.R. als zu niedrig angesehen werden kann. Zu Überversorgungen mit Se kam es vor allem durch unreflektierte Gaben mehrerer Se-haltiger Präparate.

Fazit

Für Pferde auf der Weide eignet sich ein marktübliches „Weidemineral“ mit Cu, Zn und Se. Im Stall sollten raufutterbasierte oder „Raufutter + Getreide“-Rationen durch ein Mineralfutter (empfohlene Zusammensetzung in mg/kg: Zn 4000-6000; Se 9-16; Cu 600-800) ergänzt werden (Zuteilung rd. 15 g/100 kg KM/Tag). Alternativ kann Raufutter durch die Gabe eines Ergänzungsfutters, z.B. „Müsl“, aufgewertet werden (empfohlene Zusammensetzung in mg/kg: Zn >100; Se 0,6-1,1; Cu 20-50 bei 300-500 g/100 kg KM/Tag Fütterungsmenge).

Literatur

1. GfE: Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung von Pferden. Ausschuss für Bedarfsnormen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (GfE), Mitteilung Nr. 11. DLG-Verlag, Frankfurt (Main). 2014.
2. Lufa-Nordwest: Heuenauswertung 2018, <https://www.lufa-nordwest.de/index.cfm/action/downloadcenter?file=0DEFCEFDA>
3. NRC (National Research Council): Mineral tolerance of animals. 2nd rev. ed. The National Academies Press; Washington. 2005.
4. Gordon ME et al.: Effects of added chelated trace minerals, organic selenium, yeast culture, direct-fed microbials, and Yucca schidigera extract in horses. Part I: Blood nutrient concentration and digestibility. J Anim Sci. 2013; 91:3899–3908.
5. Wagner EL, Potter GD, Eller EM, Gibbs PG, Hood DM: Absorption and retention of trace minerals in adult horses. Prof Anim Sci. 2005; 21:207-211.

6. Richardson SM, Siciliano PD, Engle TE, Ward TL: Effect of selenium supplementation and source (organic vs. inorganic) on selenium status of horses. J Anim Sci. 2006; 84:1742-1748.

Kontakt

Dr. Franziska Bockisch, Institut für Tierernährung, Ernährungsschäden und Diätetik; Universität
Leipzig
franziska.bockisch@vetmed.uni-leipzig.de

Wie gut reflektieren Haaranalysen die Nährstoffversorgung?

Katja Roscher

Klinik für Pferde, Innere Medizin; Justus-Liebig-Universität; Gießen

Aus medizinischer Sicht erscheint die Untersuchung von Haarproben zur Ermittlung der Nährstoffversorgung eines Individuums durchaus interessant: Das Probenmaterial kann ohne einen invasiven Eingriff gewonnen werden und aufgrund des kontinuierlichen Wachstums von Haaren spiegelt der Gehalt an Elementen im Haar im Unterschied zur Untersuchung von Blut, Urin oder Kot nicht nur eine Momentaufnahme wieder. Wie jede andere Labordiagnostik ist der diagnostische Wert der Messung jedoch von diversen Faktoren abhängig. Grundsätzlich muss eine Labormethode valide und insbesondere reproduzierbare Ergebnisse erbringen. Darüber hinaus muss die Methode für die zu untersuchende Spezies etabliert sein und im Rahmen der Etablierung müssen insbesondere laborspezifische Referenzintervalle erstellt werden. Nicht zuletzt stellt sich die Frage, ob überhaupt und ab welcher Größenordnung die Abweichung des Messwertes eines Individuums vom gültigen Referenzintervall eine klinische Bedeutung hat.

Für die Ermittlung des Gehaltes verschiedener Mineralstoffe aus Haaren sind in der medizinischen Literatur verschiedene Untersuchungsmethoden beschrieben. Ganz vereinzelt wurden diese auch in der Untersuchung von Pferdehaaren eingesetzt. Hierzu gehören die Atomabsorptionsspektrometrie (atomic absorption spectrometry) (1, 2), die Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS) (3, 4), die Partikel-induzierte Röntgenemission (PIXE, Particle-Induced X-ray Emission) (5) sowie die Optische Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-OES, veraltet ICP-AES, inductively coupled plasma optical emission spectrometry) (4).

Untersuchungen an menschlichen Haaren konnten zeigen, dass wie bei vielen Labormethoden die mit unterschiedlichen Methoden ermittelten Messwerte auch bei der Haarmineralanalyse nicht vergleichbar sind (6). Vergleichende Untersuchungen zwischen unterschiedlichen Methoden aus Pferdehaaren sind in der Literatur nicht vorhanden.

Um tatsächlich Informationen über die kontinuierliche Versorgung mit Mineralstoffen aus den Messergebnissen ableiten zu können, muss es möglich sein, die Menge an Haar einem relativ genau zu umschreibenden Zeitraum zuzuordnen. Dies erscheint beim Equiden lediglich für die Mähnen- und Schweifhaare möglich, da hier im Unterschied zum Deckhaar mit seinen deutlichen saisonalen Unterschieden und einem maximalen Wachstum im Herbst ein vergleichsweises gleichmäßiges Wachstum, unabhängig von der Jahreszeit, besteht. Insbesondere das Schweifhaar zeigt ein kontinuierliches Wachstum von ca. 2 cm im Monat, wohingegen das Wachstum des Mähnenhaares geringfügige Unterschiede bezüglich der Lokalisation mit abnehmender Wachstumsrate von Kopf (ca. 2 cm/Monat) zum Widerrist (ca. 1,5 cm/Monat) aufweist (7). Vergleichende Untersuchungen zwischen Robustrassen und Vollblütern konnten zeigen, dass Mähnen- und Schweifhaar bei Robustrassen etwas schnelleres Wachstum aufweisen (8). Die vorgenannte Untersuchung ergab zudem, dass das Wachstum unbeeinflusst von Alter oder Geschlecht der Tiere war.

Wenngleich sich bei der Verwendung von Mähnen- oder Schweifhaar zumindest theoretisch kontinuierliche Werte in Abhängigkeit der Zeit ermitteln lassen, ist dies eigentlich nur möglich, wenn sich die Angaben nicht nur auf ein bestimmtes Gewicht an Material beziehen, sondern auf eine spezifische Haarlänge. Werden zum Beispiel 2g Schweifhaare mit einer Länge von 2cm untersucht spiegeln die gemessenen Werte theoretisch die Versorgung über einen Monat wieder, nimmt man 2g Schweifhaare einer Länge von 10cm, erhielte man mutmaßlich einen Überblick über die Versorgung

der letzten 4 Monate. Gleichwohl sind die Angaben in den wenigen Publikationen zu Untersuchungen an Pferdehaaren auf eine Menge unabhängig von der Haarlänge beschränkt.

Mutmaßlich bedingt durch das unterschiedliche Wachstum von Mähnen- bzw. Schweifhaar und Deckhaar ergeben sich so Unterschiede der Anteile von Selen, Kupfer und Zink in Haaren von Pferden. Darüber hinaus scheint auch die Pigmentierung des Haares einen Einfluss zu haben, da die Konzentrationen der drei Elemente in weißen Haaren, im Vergleich zu schwarzen Haaren, im Mittel niedriger zu sein scheinen (3).

Schlussendlich können Untersuchungen zum Mineralstoffgehalt von Haaren nur dann einen Hinweis auf die adäquate Versorgung mit den Mineralstoffen über die Nahrung geben, wenn ein enger Zusammenhang von Aufnahme und Gehalt in den Haaren besteht. Diese Informationen können lediglich durch kontrollierte Fütterungsversuche gewonnen werden. In der internationalen Literatur findet sich lediglich eine Untersuchung zum Zusammenhang zwischen kontrollierter Mineralstoffaufnahme und dem Gehalt diverser Elemente im Mähnenhaar. Es wurden jedoch nur 12 Individuen eingeschlossen und darüber hinaus fehlen jegliche Angaben bezüglich Menge und Länge der gewonnenen Haarproben, so dass eine valide Bewertung der Ergebnisse unmöglich erscheint (9). Der fragwürdige Zusammenhang zwischen Aufnahme und Gehalt im Haar wird durch eine Studie mit 218 Kindern gestützt: Wenngleich der Mineralstoffgehalt im Haar offenbar eine Abhängigkeit von der Nahrungsaufnahme aufwies, hatte die Menge an bekanntermaßen mineralstoffreichen Nahrungsmitteln wie Milch oder Fleischprodukten keinen Einfluss auf den Gehalt von Kalzium, Magnesium, Zink und Eisen im Kopfhair (10).

Zusammenfassend zeigt sich, dass eine Untersuchung von Haarproben zur Ermittlung der Versorgung mit Mineralstoffen beim Pferd derzeit aus wissenschaftlicher Sicht nicht empfohlen werden kann, wenngleich sich im Internet zahlreiche derartige Angebote finden. Es fehlen insbesondere Untersuchungen zum eindeutigen Zusammenhang zwischen Aufnahme und Gehalt im Haar. Darüber hinaus ist bei vielen der gemessenen Substanzen ein eindeutiger Zusammenhang zwischen einem Mangel, und insbesondere dem Grad des Mangels, und einer krankhaften Veränderung vollkommen ungeklärt.

Literatur

1. Wichert B, Frank T, Kienzie E. Zinc, Copper and Selenium Intake and Status of Horses in Bavaria. *J Nutr* 2002; 132(6):1776S-1777S. Verfügbar unter: <https://academic.oup.com/jn/article-pdf/132/6/1776S/24020352/1776s.pdf>.
2. Cape L, Hintz HF. Influence of month, color, age, corticosteroids, and dietary molybdenum on mineral concentration of equine hair. *Am J Vet Res* 1982; 43(7):1132–6.
3. Ratjen A, Anke M, Füll M. Selenium, copper and zinc contents in brown, black and white mane, coat and tail hairs in horses of two locations. *PHK* 2017; 33(1):59–65. doi: 10.21836/PEM20170108.
4. Mikulewicz M, Chojnacka K, Gedrange T, Górecki H. Reference values of elements in human hair: a systematic review. *Environ Toxicol Pharmacol* 2013; 36(3):1077–86. doi: 10.1016/j.etap.2013.09.012.
5. Asano K, Suzuki K, Chiba M, SERA K, Asano R, Sakai T. Twenty-eight element concentrations in mane hair samples of adult riding horses determined by particle-induced X-ray emission. *Biol Trace Elem Res* 2005; 107(2):135–40. Verfügbar unter: <https://doi.org/10.1385/BTER:107:2:135>.
6. Seidel S, Kreutzer R, Smith D, McNeel S, Gilliss D. Assessment of commercial laboratories performing hair mineral analysis. *JAMA* 2001; 285(1):67–72. doi: 10.1001/jama.285.1.67.
7. Dunnett M, Lees P. Trace element, toxin and drug elimination in hair with particular reference to the horse. *Research in Veterinary Science* 2003; 75(2):89–101. verfügbar unter: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0034528803000742>.
8. Tracey S, Dunnett M, Langridge K, Redhead M, Wood A, Kennedy M et al. Effect of breed and environment on mane and tail growth in a mixed group of horses. In: *Proceedings of the 41st Congress of the British Equine Veterinary Association*; 2002. S. 26–7.

9. Ghorbani A, Mohit A, Darmani K, H. Effects of Dietary Mineral Intake on Hair and Serum Mineral Contents of Horses. *Journal of Equine Veterinary Science* 2015; 35(4):295–300. Verfügbar unter: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0737080615000441>.
10. Vanaelst B, Huybrechts I, Michels N, Vyncke K, Sioen I, Vriendt T de et al. Mineral Concentrations in Hair of Belgian Elementary School Girls: Reference Values and Relationship with Food Consumption Frequencies. *Biol Trace Elem Res* 2012; 150(1):56–67. Verfügbar unter: <https://doi.org/10.1007/s12011-012-9495-5>.

Kontakt

PD Dr. Katja Roscher, Klinik für Pferde, Innere Medizin, Klinikum Veterinärmedizin, Justus-Liebig-Universität Gießen
Katja.Roscher@vet.jlug.de

Wenn´s juckt: Wie gut sind Allergietests?

Bettina Wagner

Department of Population Medicine and Diagnostic Sciences, College of Veterinary Medicine, Cornell University, Ithaca, USA

Immunglobulin E (IgE)-vermittelte Allergien beim Pferd zeigen sich im Wesentlichen in zwei klinische Präsentationen: Das Sommerekzem, eine alljährlich im Sommer wiederkehrende, allergische Dermatitis, die durch Allergene aus dem Speichel von *Culicoides* Mücken (Gnizen) verursacht wird. Urtikaria, eine vorwiegend durch Futterallergene hervorgerufene generalisierte oder lokale, allergische Reaktion der Haut.

Darüber hinaus wird eine IgE Pathogenese auch immer wieder für Equines Asthma, auch bezeichnet als 'recurrent airway obstruction (RAO)' oder 'heaves', diskutiert. Diese Reaktion auf Heu, Schimmel oder Stallstaub, wird aber vorwiegend durch eine akute Entzündung der Atemwegsschleimhäute mit Beteiligung von neutrophilen Granulozyten ausgelöst. Für einzelne Pferde kann eine IgE-vermittelte Komponente beim Equinen Asthma eine Rolle spielen.

Wenn Allergien beim Pferd auftreten, stellt sich oft die Frage nach dem oder den auslösenden Allergen(en). Allergietests sind manchmal erforderlich, um die wichtigste Allergitherapie, die Allergenvermeidung, einzuleiten. Sie werden auch benutzt, um auslösende Allergene vor einer Desensibilisierungstherapie zu bestimmen. Allergietests sind also eigentlich Allergentests. Die klinische Allergie steht i.d.R. bereits fest und benötigt keine weitere Bestätigung. Als diagnostischer Schritt ist ein Allergietest deshalb nur sinnvoll, wenn er zusätzliche Informationen über die Allergieursache ergibt, die dann auch einen Einfluss auf die Therapie haben.

Beim Sommerekzem beispielsweise, ist die Ursache bereits bekannt. Die Therapie besteht in erster Linie aus Allergenvermeidung und damit einer Umstellung des Weidemanagements des Pferdes, um den Kontakt mit den Mücken deutlich zu vermindern.

Bei Pferden mit chronischer Urtikaria kommen dagegen verschiedene Allergene als Ursache in Frage. Die Bestimmung des auslösenden Allergens ist oft wichtig, um die Überreaktion des Immunsystems in Zukunft zu vermeiden.

Für die Einleitung einer Immuntherapie und ihren Erfolg ist die Bestimmung der auslösenden Allergene zwingend notwendig. Hier stellt sich beim Pferd die Frage: sind die verfügbaren Allergietests spezifisch genug, um eine Allergenbestimmung korrekt durchzuführen?

Verschiedene Methoden stehen als Allergietests zur Verfügung (1). Diese sind, um es gleich vorwegzunehmen, alle nicht perfekt. Die Entwicklung monoklonaler Antikörper gegen equines IgE (2) hat die serologische Bestimmung von allergen-spezifischen Reaktionen deutlich verbessert. Heutzutage sind verschiedene Tests für den Nachweis von allergen-spezifischen IgE, oder der Mastzell- oder Basophilensensibilisierung mit *Culicoides*-spezifischen IgE verfügbar (1, 3).

Die klassische Methode des Allergietests ist der Intrakutantest, bei dem geringe Mengen verschiedener Allergenextrakte in die Haut des Pferdes injiziert werden (4, 5). Die Allergene stimulieren Mastzellen in der Haut, die allergen-spezifisches IgE gebunden haben. Kreuzvernetzung der IgE Antikörper durch das Allergen führt zur Mastzelldegranulation und damit zur Freisetzung von vasoaktiven Aminen, wie z.B. Histamin. Dies führt zu einer Sofortreaktion, die an der Allergeninjektionsstelle innerhalb von 20-30 Minuten als eine deutliche Verdickung der Haut mit Quaddelbildung sichtbar ist (6). Diese Methode ist in der Praxis aufwendig, erfordert das Scheren

einer Halsseite und die Akzeptanz ist daher oft gering. Der Intrakutantest ist aber immer noch die beste Methode zur Allergenbestimmung, nicht zuletzt, weil er die potenten Mastzellen des Pferdes benutzt um die 'richtigen' Allergene aus dem Extraktgemisch herauszufischen. Ein Intrakutantest gibt die besten Ergebnisse, während das Pferd dem Allergen ausgesetzt ist. Allerdings können in dieser Zeit auch unspezifische Überreaktionen auftreten, die in vielen falsch positiven Reaktionen resultieren. Letzteres ist ein generelles Problem aller Allergietests.

Das gleiche Prinzip wie beim Intrakutantest wird bei sogenannten 'funktionellen Allergietests' genutzt. Diese haben den Vorteil, dass sie mittels Blutproben durchgeführt werden können. Bei diesen Tests wird das gerinnungsgehemmte Blut im Labor mit Allergenextrakten inkubiert. Basophile Granulozyten, die ähnlich wie Mastzellen allergen-spezifische IgE Antikörper auf ihrer Oberfläche gebunden haben, werden dabei aktiviert und schütten Histamin aus (7, 8). Das Histamin wird dann im ELISA oder anderen Immuntests bestimmt. Die Praktikabilität dieser auf Basophilenstimulierung basierenden Allergietests ist meist besser als für Intrakutantests. Allerdings müssen die Proben zügig im Labor ankommen und die vorherige Behandlung des Pferdes mit steroidal Glykorkortikoiden kann die Ergebnisse deutlich verfälschen.

Serologische Allergietests basieren auf dem Nachweis von löslichen allergen-spezifischen IgE Antikörpern im Serum. Die meisten serologischen Allergietests werden in ELISA-Verfahren durchgeführt. Dabei werden verschiedene Allergene an die ELISA-Platte gebunden. Allergen-spezifische Antikörper aus dem Serum binden dann an die Allergen und werden im nächsten Schritt mit IgE-spezifischen Nachweisreagenzien identifiziert. Dazu eignen sich entweder monoklonale Reagenzien gegen equines IgE (8-11) oder, als Alternative, IgE-Rezeptormoleküle (12). Das Prinzip klingt plausibel und Serumtests sind hinsichtlich ihrer Praktikabilität sehr attraktiv. Trotzdem sind serologische Allergietests mit vielen Problemen behaftet. Zwei Probleme stehen dabei dem korrekten Testergebnis im Wege. Zum einen müssen die Allergenpräparationen von guter Qualität und ausreichender Reinheit sein, um Kreuzreaktionen und falsch positive Ergebnisse zu vermeiden (9, 13). Dies kann heutzutage durch die Verwendung von rekombinanten Allergenen erreicht werden. Für jedes Allergen muss der Test allerdings separat validiert werden. Das macht den Test teuer. Zum anderen konkurrieren Serum IgG und IgE Antikörper um die Allergenbindungsstellen auf der ELISA-Platte. Allergen-spezifische IgG Antworten gehen der Entwicklung von allergen-spezifischen IgE Antikörpern immer voraus und IgG Antikörperkonzentrationen sind 1000 bis 100000-fach höher als die für IgE. Daher bindet immer überwiegend IgG an die Allergene der Platte und nur sehr wenig IgE. Die Folge sind falsch negative Reaktionen und/oder mögliche Kreuzreaktionen der Nachweisreagenzien mit IgG Antikörpern (8, 9). Letztere sind nur bedingt zur Allergendiagnostik einsetzbar, da allergische Pferde IgG Antworten gegen viele Substanzen entwickeln ohne dagegen allergisch zu sein (14). Insgesamt sind Ergebnisse von serologischen Allergietests daher mit Vorsicht zu beurteilen.

Literatur

1. Wagner B. IgE in horses: Occurrence in health and disease. Vet. Immunol. Immunopathol. 2009; 132:21-30.
2. Wagner B, Radbruch A, Rohwer J et al. Monoclonal anti-equine IgE antibodies with specificity for different epitopes on the immunoglobulin heavy chain of native IgE. Vet. Immunol. Immunopathol. 2003; 92:45-60.
3. Schaffartzik A, Hamza E, Janda J, Crameri R, Marti E, Rhyner C. Equine insect bite hypersensitivity: What do we know? Vet. Immunol. Immunopathol. 2012; 147:113-126.
4. Larsen HJ, Bakke SH, Mehl R. Intradermal challenge of Icelandic horses in Norway and Iceland with extracts of *Culicoides* spp. Acta Vet. Scandinavica 1988; 29:311-314.

5. Anderson GS, Belton P, Kleider N. Hypersensitivity of horses in British Columbia to extracts of native and exotic species of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae). J. Med. Entomol. 1993; 30:657-663.
6. Wagner B, Miller WH, Morgan EE, Hillegas JM, Erb HN, Leibold W, Antczak DF. IgE and IgG antibodies in skin allergy of the horse. Vet. Res. 2006; 37:813-825.
7. Wagner B, Childs BA, Erb HN. A histamine release assay to identify sensitization to *Culicoides* allergens in horses with skin hypersensitivity. Vet. Immunol. Immunopathol. 2008; 126:302-308.
8. Langner KF, Darpel KE, Drolet BS, Fischer A, Hampel S, Heselerhaus JE, Mellor PS, Mertens PP, Leibold W. Comparison of cellular and humoral immunoassays for the assessment of summer eczema in horses. Vet. Immunol. Immunopathol. 2008; 122:126-137.
9. Morgan EE, Miller WH, Wagner B. A comparison of intradermal testing and detection of allergen-specific immunoglobulin E in serum by enzyme-linked immunosorbent assay in horses affected with skin hypersensitivity. Vet. Immunol. Immunopathol. 2007; 120:160-167.
10. Schaffartzik A, Marti E, Torsteindottir S, et. al. Selective cloning, characterization and production of the *Culicoides nubeculosus* salivary gland allergen repertoire associated with equine insect bite hypersensitivity. Vet Immunol Immunopathol 2011; 139: 200-209.
11. Van der Meide NMA, Meulenbroeks C, van Altena C, Schurink A, Ducro B, Wagner B, Leibold W, Rohwer J, Jacobs F, Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan MM, Savelkoul HFJ, Tijhaar E. *Culicoides obsoletus* extract relevant for diagnostics of insect bite hypersensitivity in horses. Vet. Immunol. Immunopathol. 2012; 149: 245-254.
12. Frey R, Bergvall K, Egenvall A. Allergen-specific IgE in Icelandic horses with insect bite hypersensitivity and healthy controls, assessed by FcεRIα-based serology. Vet. Immunol. Immunopathol. 2008; 126:102-109.
13. Eder C, Cramer R, Mayer C, Eicher R, Straub R, Gerber H, Lazary S, Marti E. Allergen-specific IgE levels against crude mould and storage mite extracts and recombinant mould allergens in sera from horses affected with chronic bronchitis. Vet. Immunol. Immunopathol. 2000; 73:241-253.
14. Ziegler A, Hamza E, Jonsdottir S, Rhyner C, Wagner B, Schüpbach G, Svansson V, Torsteinsdottir S, Marti E. Longitudinal analysis of allergen-specific IgE and IgG subclasses as potential predictors of insect bite hypersensitivity following first exposure to *Culicoides*. Vet. Dermatol. 2018; 29: 51-e22.

Wenn's juckt: Wie gut funktioniert die Desensibilisierung?

Bettina Wagner

Department of Population Medicine and Diagnostic Sciences, College of Veterinary Medicine, Cornell University, Ithaca, USA

Desensibilisierung ist eine Therapie die bei IgE-vermittelten Allergien eingesetzt wird (1, 2). Diese allergen-spezifische Therapie wird auch als Allergenimmuntherapie oder Immuntherapie bezeichnet. Bei Allergien reagiert das Immunsystem mit einer übermäßigen Entzündungsreaktion auf an sich harmlose Substanzen, die Allergene. Die Entzündung wird durch Degranulation von Mastzellen hervorgerufen, die auf ihrer Zelloberfläche allergen-spezifische IgE Antikörper gebunden haben. Bei Kontakt mit Allergenen werden die IgE Antikörper kreuzvernetzt. Dies aktiviert die Mastzellen verschiedene Entzündungsmediatoren auszuschütten, die dann die klinische Allergiesymptomatik auslösen (3, 4).

Das Ziel der Immuntherapie ist es eine deutliche Verringerung, oder im Idealfall das vollständige Verschwinden, der klinischen Allergiesymptome zu erreichen. Dabei geht es darum die ‚entgleiste‘ Immunreaktion aufzufangen, umzukehren und den allergischen Patienten wieder tolerant gegen das oder die allergieauslösenden Allergen(e) zu machen (1, 2). Insbesondere bei Pferden mit Sommerekzem, einer IgE-vermittelten Allergie, die in jedem Sommer wiederkehrt und bei den betroffenen Pferden mit starkem Juckreiz, Hautirritationen, und extremen Unwohlsein, bis zum Gewichtsverlust, einhergeht (3, 4), wäre ein erfolversprechendes Desensibilisierungsprotokoll von großem Wert.

Die Immuntherapie wird beim Menschen und auch bei Hunden mit verschiedenen Allergieformen, bei denen die auslösenden Allergene bekannt und bestimmbar sind, bereits mit recht gutem Erfolg durchgeführt. Warum ist es beim Pferd so schwierig eine erfolgreiche Immuntherapie mit klarer Verringerung der Allergiesymptomatik zu etablieren?

Bei der Immuntherapie wird das Immunsystem veranlasst das Allergen wieder als harmlos zu tolerieren. Dies wird durch geringe, mehrfache Allergeninjektionen oder orale Allergenverabreichung erreicht (1). Mechanistisch muss dabei die beim Allergiker bereits etablierte, langanhaltende IgE Antwort gegen das Allergen unterdrückt und kontrolliert werden. Die Verringerung der allergen-spezifischen IgE Antwort, bewirkt eine reduzierte Beladung der Mastzellrezeptoren mit allergen-spezifischen IgE. Die Folge ist eine Reduktion der Mastzelldegranulation und damit der klinischen Allergiesymptome. Dies kann durch verschiedene immunologische Mechanismen erreicht werden, wie beispielsweise einer Erhöhung von allergen-spezifischen regulatorischen T-Zellen oder von neutralisierenden allergen-spezifischen IgG Antikörpern (2, 5).

In jedem Fall ist es notwendig die Immuntherapie auf das oder die auslösenden Allergene abzustimmen, damit es funktioniert. Dies wird durch einen Allergietest erreicht, der die auslösenden Allergene individuell bestimmt – und hier liegt gegenwärtig das Problem der Immuntherapie beim Pferd (siehe Manuskript ‚Wenn's juckt: Wie gut sind Allergietests?‘).

Der Nachweis des auslösenden Allergens ist aufgrund der oft unspezifischen Allergietests bei Pferden nicht immer möglich (6, 7). Für das Sommerekzem stehen die auslösenden Allergene prinzipiell fest. Es sind Proteine aus dem Speichel von blutsaugenden *Culicoides* Mücken, mit denen die Pferde in den Sommermonaten auf der Weide in Kontakt kommen.

Erste Versuche einer Immuntherapie bei Pferden mit Sommerexzem mit *Culicoides* Gesamtextrakten waren bislang von geringem Erfolg und außerdem aufwendig. Einige Autoren berichten von guten Erfolgen nach zwei Jahren wöchentlicher Allergeninjektion (8), andere sahen keinen Effekt der Immuntherapie in einer Doppelblindstudie (9). Die gleiche Diskrepanz wurde nach Immuntherapie bei Pferden in Feldstudien beobachtet (10, 11). Die gegensätzlichen Ergebnisse lassen sich zum Teil durch Unterschiede in den benutzten Allergenextrakten erklären. Um Erfolg und Reproduzierbarkeit der Immuntherapie beim Menschen zu gewährleisten, gibt es inzwischen hohe Standards hinsichtlich Reinheit und Qualität der Allergenpräparationen (12).

Im *Culicoides* Speichel sind eine ganze Reihe von potentiellen Allergenen enthalten und in den letzten Jahren wurden die Allergene identifiziert, die das Sommerexzem wahrscheinlich bei den meisten Pferden auslösen (13-15). Das bedeutet, dass wir hoffentlich bald in der Lage sein werden, allergen-spezifische Immuntherapien bei Pferden mit Sommerexzem mit größerem Erfolg durchzuführen. Bevor es soweit ist, müssen die auslösenden *Culicoides* Allergene noch in experimentellen Studien getestet werden, um die optimale Verabreichungsform, Dosis und Häufigkeit der Allergengaben zu bestimmen. Ohne solche Qualitätsstandards wird die Immuntherapie beim Pferd auch weiterhin empirisch bleiben.

Literatur

1. Mahler V, Esch RE, Kleine-Tebbe J, Lavery WJ, Plunkett G, Vieths S, Bernstein DI. Understanding differences in allergen immunotherapy products and practices in North America and Europe. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2019; 143:813-828.
2. Satitsuksanoa P, van de Veen W, Akdis M. B-cell responses in allergen immunotherapy. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2019; doi: 10.1097/ACI.0000000000000580.
3. Wagner B. IgE in horses: Occurrence in health and disease. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2009; 132:21-30.
4. Schaffartzik A, Hamza E, Janda J, Cramer R, Marti E, Rhyner C. Equine insect bite hypersensitivity: What do we know? *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2012; 147:113-126.
5. Jutel M, Akdis M, Blaser K, Akdis CA. Are regulatory T cells the target of venom immunotherapy? *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2005; 5:365-369.
6. Eder C, Cramer R, Mayer C, Eicher R, Straub R, Gerber H, Lazary S, Marti E. Allergen-specific IgE levels against crude mould and storage mite extracts and recombinant mould allergens in sera from horses affected with chronic bronchitis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2000; 73:241-253.
7. Morgan EE, Miller WH, Wagner B. A comparison of intradermal testing and detection of allergen-specific immunoglobulin E in serum by enzyme-linked immunosorbent assay in horses affected with skin hypersensitivity. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2007; 120:160-167.
8. Anderson GS, Belton P, Jahren E et al. Immunotherapy trial for horses in British Columbia with *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) hypersensitivity. *J. Med. Entomol.* 1996; 33:458-466.
9. Barbet JL, Bevier D, Greiner EC. Specific immunotherapy in the treatment of *Culicoides* hypersensitive horses: a double-blind study. *Equine Vet J.* 1990; 22:232-235.
10. Radwanski NE, Morris DO, Boston RC, Cerundolo R, Lee KW. Longitudinal evaluation of immunological responses to allergen-specific immunotherapy in horses with IgE associated dermatological disease, a pilot study. *Vet. Dermatol.* 2019; 30:255-e78.
11. Marteles D, Verde MT, Conde T, Pereboom D, Casanova Á, Villanueva-Saz S, Ortín A, Fernández A. Effects of allergen-specific immunotherapy on peripheral blood regulatory T cells and serum concentrations of cytokines and immunoglobulins in horses with allergic dermatitis. *Int. Immunopharmacol.* 2019; 74:105674. doi: 10.1016/j.intimp.2019.105674.
12. Golden DBK. Insect sting allergy: new guidelines from the European and USA consensus groups: algorithms and recommendations. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2019; 19:456-461.

13. Langner KF, Darpel KE, Drolet BS, Fischer A, Hampel S, Heselhaus JE, Mellor PS, Mertens PP, Leibold W. Comparison of cellular and humoral immunoassays for the assessment of summer eczema in horses. Vet. Immunol. Immunopathol. 2008; 122:126-137.
14. Schaffartzik A, Marti E, Torsteindottir S, et. al. Selective cloning, characterization and production of the *Culicoides nubeculosus* salivary gland allergen repertoire associated with equine insect bite hypersensitivity. Vet Immunol Immunopathol 2011; 139: 200-209.
15. Van der Meide NMA, Roders N, Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan MM, et al.. Cloning and expression of candidate allergens from *Culicoides obsoletus* for diagnosis of insect bite hypersensitivity in horses. Vet. Immunol. Immunopathol. 2013; 153: 227-239.

Was kostet der Huf?

Conny Herholz¹, Salome Wägeli², Christoph Kopp¹ und André Estermann¹

¹Hochschule für Agrar-, Forst- und Lebensmittelwissenschaften (HAFL), Zollikofen, Schweiz;

²Nationales Pferdezentrum Bern, Schweiz

Ohne Huf kein Pferd

Ohne Huf kein Pferd – so lautet ein altes Züchterspruchwort. Die Gesundheit der Hufe ist die Grundlage für die Nutzung eines Pferdes (1) und sollte Pferdebesitzer/innen dementsprechend wichtig sein. 523 Schweizer Pferdebesitzer/innen wurden zur Hufpflege und deren Kosten befragt. Die Ergebnisse zeigen, dass man sich intensiv um die Schweizer Pferdehufe kümmert: Rund 59 Prozent der Befragten lassen ihr Pferd beschlagen und etwa 40 Prozent beziehen Dienstleistungen wie Hufpflege und Ausschneiden. Mehr als 30 Prozent der Pferdebesitzer/innen verwenden Huffett, womit es sich als klassisches Hufpflegeprodukt behaupten kann, was sich mit den Ergebnissen der von Thirkell und Hyland (2) deckt. 14 Prozent setzen zudem ein Strahlfäulemittel und 12% ein hufqualitätsverbesserndes Zusatzfutter ein. Hufsalbe oder Huffeer finden hingegen nur wenig Anwendung (7,6 Prozent beziehungsweise 2,8 Prozent).

Der klassische Hufbeschlag

Pro Beschlag fallen – abhängig von der Anzahl Eisen, dem Material und der Ausführung – zwischen 45 Euro* (zwei Eisen) und 637 Euro (vier Spezialeisen) an. Durchschnittlich bezahlt ein/e Schweizer Pferdebesitzer/in 194 Euro für den Beschlag des Pferdes. Gleichwohl geben 10 Prozent derjenigen, die ihr Pferd beschlagen lassen, über 274 Euro dafür aus. Am häufigsten wird das Pferd alle sieben bis acht Wochen beschlagen. Vereinzelt wartet man damit bis zu 13 Wochen. Im Schnitt entstehen so jährliche Kosten von 1'297 Euro. Die Spannweite ist aber groß; so bezahlte einer der Befragten in einem Jahr 3'534 Euro für den Beschlag seines Pferdes.

Günstigere «Barhufer»

Die Hufpflege und das Ausschneiden lassen sich die Pferdebesitzer/innen ebenfalls etwas kosten. Pro Behandlung bezahlen sie zwischen 18 und 150 Euro. Durchschnittlich kostet die Hufpflege 79 Euro pro Mal und 586 Euro im Jahr. Wer sein Pferd nicht beschlagen lässt, nimmt häufiger den Service der Hufpflege in Anspruch und verwendet meistens auch Hufschuhe – 87 Prozent laut Umfrage. Hufschuhe kosten zwischen 45 und 749 Euro. Die Verwendungsdauer der Hufschuhe variiert sehr stark, wodurch durchschnittliche Jahreskosten nicht abschliessend errechnet werden konnten. Trotzdem zeigen die Umfrageergebnisse klar, dass bezüglich Hufkosten «barhufige» Pferde um einiges günstiger sind als beschlagene.

Preis- und Markenwahrnehmung

Beim Kauf von Hufpflegeprodukten greift der Pferdebesitzer vielfach nicht bewusst ins Regal. So konnten beispielsweise 51% der Befragten, die Huffett verwenden, die gewählte Marke nicht nennen. Ebenfalls ist das Preisbewusstsein relativ gering; 53 % der Pferdebesitzer wussten nicht, wie viel sie für eine Dose Huffett ausgeben. Beim Zusatzfutter hingegen macht man sich mehr Gedanken beim Kauf – rund 71 % wussten den Preis des gekauften Produkts und 87 % sogar die Marke. Durch das breite Angebot an Hufpflegeprodukten und Zusatzfuttermitteln könnte ein Vergleich der verschiedenen Produkte sowie Preise durchaus lohnenswert sein. Im Zweifelsfall ist es außerdem sinnvoll, sich Ratschläge von einem Fachmann, z.B. Tierarzt oder Hufschmied, zu holen.

Hufkosten abhängig von Alter und Rasse

Einfluss auf die Höhe der Hufkosten haben das Alter, die Pferderasse, die Nutzungsintensität und die Zielausrichtung des Reitens (Sport vs. Freizeit). So sind die Hufkosten für ein Pony verglichen mit anderen Pferdetypen deutlich tiefer. Zu berücksichtigen ist, dass von den befragten 72 Ponybesitzern 63.9 % ihre Ponys nicht beschlagen lassen. Mit den höchsten Kosten sollte bei einem Voll- und Warmblutpferd gerechnet werden. Auch bei Freibergpferden fallen leicht höhere Kosten für die Hufe an als bei Ponys. Mit zunehmendem Alter der Pferde wird auch mehr Geld für den Hufbeschlag und die Hufpflege ausgegeben. Pferde im Alter von 17 bis 30 Jahren verursachen die höchsten Kosten. So sind zum Beispiel für ein Freizeitpony im Alter von 20 Jahren über 183 Euro höhere Hufkosten im Jahr zu erwarten als für ein achtjähriges Freizeitpony. Diese Erkenntnisse decken sich diesbezüglich mit den Ergebnissen der Studie von Holzhauer et al. (3), die in ihrer Erhebung einen Einfluss von Rasse, Alter und Management auf die Hufgesundheit aufzeigen konnten.

Nutzungsbedingte Unterschiede

Intensive Sportreiter/innen geben signifikant mehr Geld für die Hufe aus als Besitzer/innen, die ihre Pferde vorwiegend zur Freizeitnutzung halten. 90 Prozent der Sportpferde werden beschlagen, was bereits größtenteils die höheren Kosten erklärt. Außerdem verwenden Sportreiter/innen häufiger Hufpflegeprodukte, wie Huffett oder Hufsalbe. Zudem sind bei Pferden, die viel genutzt (z.B. Reiten, Fahren, Führen) werden, höhere Ausgaben im Hufbereich zu erwarten. Bereits ab fünf Einsätzen pro Woche steigen die Kosten signifikant an. Sind es über sieben, muss man mit beinahe doppelt so hohen jährlichen Hufkosten rechnen, als wenn ein Pferd nur ein bis zwei Mal pro Woche genutzt wird.

Hufprobleme können teuer werden

Zusätzlich zu den Ausgaben für Beschlag und Pflege können zusätzlich sehr hohe Kosten anfallen, wenn bei einem Pferd Hufprobleme auftreten. Ein befragter Pferdebesitzer gab beispielsweise an, in einem Jahr 13'645 Euro für Tierarztkosten ausgegeben zu haben, die durch Hufprobleme entstanden sind. Hinzu kommt, dass wer im vorigen Jahr aufgrund von Hufproblemen über 455 Euro für den Tierarzt ausgegeben hat, auch mit höheren Kosten für den Beschlag rechnen muss. Ein befragter Pferdebesitzer meinte dazu: «Ein Pferd mit auch nur einem kranken Huf ist wohl etwas vom kostspieligsten in der Pferdehaltung. Man muss sich bewusst sein, dass das Management eines solchen Tieres nicht unbedingt einfach ist».

Umsatz durch Schweizer Pferdehufe

Für ein Pferd wird durchschnittlich 1'155 Euro jährlich für Dienstleistungen und Pflegeprodukte rund um den Huf ausgegeben - oder 96 Euro im Monat. Dazu kommt die Anschaffung von Hufschutzprodukten wie Glocken und Hufschuhen, die pro Pferd zusätzlich mit rund 115 Euro zu Buche schlägt. Im Verhältnis zu den restlichen Unterhalts- beziehungsweise Pensionskosten eines Pferdes sind die Ausgaben für den Huf somit relativ gering. Trotzdem ergibt dies hochgerechnet auf die aktuelle Schweizer Equidenpopulation von 125'922 Tieren (Tierverkehrsdatenbank TVD, 31.7.2019) mehr als 145 Mio. Euro, die jährlich in Serviceleistungen und Pflegeprodukte für den Equidenhuf investiert werden. Damit ist das Business rund um den Huf ein wichtiger Bestandteil des gesamten Umsatzes der Schweizer Pferdewelt.

Schlussfolgerung

Die Hufgesundheit hängt massgeblich vom Management ab. Aber auch die erbliche Komponente spielt eine Rolle (4). So sollten Pferdezüchter/innen bei der Selektion ihrer Zuchtpferde vermehrt auf die Hufqualität und -gesundheit achten. Gesunde Hufe sind für viele Pferdebesitzer

selbstverständlich – die Bedeutung davon wird erst klar, wenn Probleme auftauchen, die oftmals nicht nur große finanzielle Folgen haben, sondern auch Einschränkungen in der Nutzung des Pferdes und ein anspruchsvolles Management nach sich ziehen. Deshalb lohnt es sich für Pferdebesitzer/innen, Zeit und Geld in die Gesunderhaltung der Hufe und somit in das Wohlbefinden der Pferde zu investieren.

*Schweizer Preise, Umrechnungskurs Schweizer Franken z.B. Euro vom 2.8.2019

Literatur

1. Hanstorp K., Mihiretie B. M., Karlsteen M., Rosén A., Sundin M., Cederkrantz D., Otterberg H., Hinton Å., Berg B.. Numerical simulation and experimental scheme for monitoring hoof wall structure and health in sport horses. Proceedings of the 4th International Congress on Sport Sciences Research and Technology Support; 2016, (1): icSPORTS, 171-175, Porto, Portugal
2. Thirkell J., Hyland R. A Preliminary Review of Equine Hoof Management and the Client - Farrier Relationship in the United Kingdom. J Equine Vet Sci 2017; 59, S. 88–94
3. Holzhauer M., Bremer R., Santman-Berends I., O. Smink O., Janssens I., Back W. Cross-sectional study of the prevalence of and risk factors for hoof disorders in horses in The Netherlands. Prev Vet Med 2017; 140, S. 53–59
4. Treiber K.H.; Kronfeld, D.S., Hess T.S., Byrd B.M., Splan R.K., Burton Staniar W. Evaluation of genetic and metabolic predispositions and nutritional risk factors for pasture-associated laminitis in ponies," JAVMA 2006; 228(10), 1538-1545.

Kontakt

PD Dr. Conny Herholz, Hochschule für Agrar-, Forst- und Lebensmittelwissenschaften (HAFL),
Zollikofen, Schweiz
Conny.Herholz@bfh.ch

Wie gut sind kommerzielle Ergänzungsfuttermittel zur Verbesserung der Hufhornqualität?

Ingrid Vervuert

Institut für Tierernährung, Ernährungsschäden und Diätetik, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig

Einleitung

Das Hufhorn bei Pferden besteht zu ca. 95 % aus komplexen Proteinstrukturen, wobei die vernetzenden Keratinproteine unterschiedliche Kettenlängen und Funktionen aufweisen, die insgesamt der Stabilisierung des Hufhorns dienen. Keratinproteine zeichnen sich neben hohen Gehalten an Glutamat, Arginin, Leuzin und Aspartat, auch durch hohe Gehalte der schwefelhaltigen Aminosäure Cystin aus, wobei Cystin durch vernetzende Disulfidbrücken entscheidend zur Festigkeit des Hufhorns beiträgt. Die schwefelhaltige Aminosäure Methionin kommt hingegen in deutlich geringeren Konzentrationen im Hufhorn bei Pferden vor. Überraschenderweise wurden höhere Methioningehalte in beanstandeten Hufhornsohlen gefunden als im Hufhorn von Pferden, die als intakt beschrieben wurden [1].

Als anorganische Bestandteile kommen neben Schwefel, welcher eingebaut in den schwefelhaltigen Aminosäuren vorliegt, weitere Mineralstoffe im Hufhorn vor. Hier verdient vor allen Dingen Zink (Zn) eine besondere Aufmerksamkeit, da es als Spurenelement in relativ hohen Konzentrationen im Hufhorn gefunden wird. In der Untersuchung von Spitzlei (1996)[1] wurden allerdings keine Unterschiede im Zn-Gehalt zwischen beanstandeten und intakten Hufhornqualitäten gefunden. Offen bleibt aber, ob eine bedarfsunterschreitende Zn-Versorgung bei Pferden zu einer verminderten Hufhornqualität führen kann.

Einen negativen Zusammenhang scheint es in Bezug zu einer deutlich bedarfsübersteigenden Selenversorgung und Beanstandungen bei der Hufhornqualität zu geben. Selen (Se) ist ein Schwefel-Antagonist, hier konnten z.B. bei beanstandeten Hufhornqualitäten, erhöhte Se-Gehalte im Hufhorn gefunden werden [1]. Se kann im Keratin nicht die Funktion von Schwefel übernehmen, sodass es vermutlich zu einer Abnahme der vernetzenden Disulfidbrücken kommt, die entscheidend zur Festigkeit des Hufhorns beitragen.

Im Gegensatz zu den fehlenden Untersuchungen zu den schwefelhaltigen Aminosäuren und Zn, liegen einige Studien zur oralen Biotin-Zulage beim Pferd vor. Die orale Biotin-Supplementierung scheint eine Verbesserung der Hufhornqualität wie z.B. Zugfestigkeit oder Härte beim Pferd bewirken zu können [2], sodass Pferde mit einer schlechten Hufhornqualität von einer langfristigen oralen Biotin-Gabe profitieren können. In der Regel wird das wasserlösliche Vitamin durch die intestinale Mikroflora ausreichend synthetisiert, denkbar sind allerdings Fütterungsfehler (z.B. hohe Stärkezufuhr) oder intestinale Erkrankungen, die u.U. zu einer verringerten Syntheseleistung der Mikroflora führen

Was sollte bei Ergänzungsfuttermitteln zur Verbesserung der Hufhornqualität beachtet werden?

Auch wenn eine Vielzahl von kommerziellen Ergänzungsfuttermitteln zur Verbesserung der Hufhornqualität für Pferde auf dem Markt zur Verfügung stehen, so liegen nur wenige wissenschaftliche Studien vor, die die Wirksamkeit solcher oralen Ergänzungsfuttermittel zum Ziel hatten.

Tabelle 1: Überprüfung der Deklaration von kommerziellen Ergänzungsfuttermitteln zur Verbesserung der Hufhornqualität bei Pferden (N = 30), Stand Juni 2019

Item	Cystin (4/30) ¹	Methionin (23/30) ¹	Zink (30/30) ¹	Biotin (29/30) ¹
Gehalte pro kg (MW ± SD)	4,8 ± 3,6 g	48 ± 65 g	5643 ± 3912 mg	1171 ± 1589 mg
Aufnahme gemäß Hersteller für 600 kg KM (Min/Max)	0,3-0,7 g	0,009-9 g	13-720 mg	0,0234-75 mg
Wissenschaftliche Empfehlungen für 600 kg KM	Cystin- Zulage eventuell sinnvoll, Studien fehlen	Bedeutung der Methionin- Zulage unklar	> 300 mg, mindestens 50 % des Zn- Bedarfs	> 18-60 mg, Toxizität nicht bekannt

¹Angabe, bei wie vielen Produkten (Gesamtanzahl N = 30) der entsprechende Nährstoff als Zusatzstoff deklariert wurde

Schwefelhaltige Aminosäuren Cystin und Methionin

Bei der Überprüfung von 30 kommerziellen Ergänzungsfuttermitteln zur Verbesserung der Hufhornqualität für Pferde, enthielten nur vier Produkte Cystin, wohingegen 23 Produkte Methionin enthielten. In Bezug auf die schwefelhaltigen Aminosäuren ist dringender Forschungsbedarf gegeben, da Dosis-Wirkungsstudien fehlen und auch der Einsatz von Methionin aus den wenigen vorliegenden Daten umstritten ist.

Zink

Zn ist in relativ hohen Konzentrationen im Hufhorn enthalten, sodass eine bedarfsangepasste Zufuhr u.A. auch für das Hufhorn sicherzustellen ist. Ein nicht unerheblicher Anteil an Spurenelementen wie z.B. Eisen oder Mangan wird bereits über das Grundfutter wie z.B. Heu bedarfsdeckend abgedeckt, wohingegen die Zufuhr an Zn über das Grundfutter häufig nicht eindeutig einzuschätzen ist, da die Gehalte sehr variabel sein können (Tabelle 2), sodass die Zufuhr an Zn ggf. über ein Hufprodukt abzudecken ist, hierbei sollten mindestens 50 % des Zn-Bedarfs über das kommerzielle Ergänzungsfutter abgedeckt werden.

Tabelle 2: Spurenelementgehalte (mg/kg TS¹) im Pferdeheu (LUFA Nordwest, Angabe Mittelwert und Schwankungsbreite)

Parameter (mg/kg TS)	2017 (n = 238)	2018 (n = 309)	Zielwert (mg/kg TS)	Bedarf (mg/kg KM ^{0,75})[3]
Zink	28 (11 - 74)	25 (11 - 178)	40-80	4-4,5
Kupfer	5,1 (3,0 - 11,7)	4,9 (2,2 - 21,2)	6-12	1-1,1
Mangan	140 (21 - 498)	152 (11 - 692)	50-80	4-4,5
Eisen	233 (26 - 1944)	232 (34 - 12815)	50-80	4-5

¹TS = Trockensubstanz

Bei der Beurteilung eines Hufproduktes sollten neben dem notwendigen Gehalt zur Abdeckung des Zn-Bedarfs, auch die verwendeten Zn-Verbindungen kritisch überprüft werden. Vereinzelt werden Zn-Oxid Verbindungen in Hufprodukten eingesetzt (zwei Produkte von 30 überprüften Produkten). Zn-Oxid zeichnet sich aber durch eine sehr schlechte Absorption aus, sodass Zn-Sulfat oder Zn-Chelate (z.B. gebunden an Aminosäuren) empfohlen werden. In Einzelfällen liegen bei den überprüften Hufprodukten keine Informationen zur verwendeten Zn-Verbindung vor, welches einen Verstoß gegen die obligatorischen Kennzeichnungsangaben gemäß VO Nr. 767/2009 darstellt. Produkte, die Zn-Oxid enthalten und Produkte ohne Deklaration der Zn-Verbindung, sollten grundsätzlich nicht verwendet werden. Des Weiteren sind die Zn-Gehalte in den Produkten sehr variabel, hier stellt eine angemessene Zn-Konzentration ein wichtiges Entscheidungskriterium dar (siehe Tabelle 1).

Selen

Bei den überprüften Ergänzungsfuttermitteln fiel auf, dass in 50 % der Hufprodukte Se enthalten war. Aufgrund des Antagonismus zum Schwefel sollte auf Se als Zusatzstoff verzichtet werden, da die Basisration z.B. durch Ergänzung eines Mineralfutters bereits ausreichend Se enthalten kann, um den Se-Bedarf decken zu können. Eine Überversorgung mit Se sollte aber unbedingt vermieden werden. Aus diesen Gründen sollten nur solche Hufprodukte gewählt werden, die Se nicht als deklarierten Zusatzstoff enthalten.

Biotin

Biotin ist in fast allen kommerziellen Hufprodukten enthalten, allerdings sind die Biotin-Gehalte sehr variabel, sodass ein angemessener Biotin-Gehalt als Kriterium zur Wahl des Produktes genutzt werden sollte (siehe Tabelle 1).

Fazit

Bei der Überprüfung von 30 Ergänzungsfuttermitteln zur Verbesserung der Hufhornqualität bei Pferden werden erhebliche Streuungen bei den verschiedenen Nährstoffen gefunden, deshalb sollte die Nährstoffzufuhr über das Hufprodukt überprüft werden und mit den Empfehlungen abgeglichen werden. Zukünftige Studien sollten die Bedeutung der schwefelhaltigen Aminosäuren thematisieren, insbesondere die schwefelhaltige Aminosäure Cystin sollte stärker in den Fokus gerückt werden. Kommerzielle Produkte, die Zn-Oxid als Zn-Quelle enthalten, sind aufgrund der geringen Zn-Verfügbarkeit nicht zu empfehlen. Aber auch Se-haltige Hufprodukte können problematisch sein, insbesondere, wenn bereits durch die Ration eine bedarfsangepasste Se-Zufuhr gegeben ist.

Literatur

1. Spitzlei, S. Untersuchung zur Zusammensetzung des Hufhorns beim Pferd, deren Bedeutung für die Stabilität und Beziehung zur Nährstoffversorgung. Dissertation Tierärztliche Hochschule Hannover, 1996
2. Geyer, H.J., Schulze, J. The long-term influence of biotin supplementation on hoof horn quality in horses. Schweizer Archiv Tierheilkunde, 1994;136:137-149
3. Gesellschaft für Ernährungsphysiologie. Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung von Pferden. DLG Verlag, 2014

Kontakt

Prof. Dr. Ingrid Vervuert, Institut für Tierernährung, Ernährungsschäden und Diätetik,
Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig
ingrid.vervuert@vetmed.uni-leipzig.de

Fälle aus der Praxis I – Wenn's juckt!

Kira Gehrke

Tierärztliche Praxis für Pferde Dr. Ulrich Mengeler, Hamminkeln

Anamnese

Im März 2017 wurde in der Tierärztlichen Praxis für Pferde Dr. Ulrich Mengeler ein zehnjähriger P.R.E. Wallach mit Juckreiz ungeklärter Ursache zur Zweitmeinung vorgestellt. Die Hautproblematik bestand seit ca. drei Jahren. Bisherige Behandlungen mit lokalen Antimykotika und systemischer Kortisongabe waren nur von kurzer oder gar keiner Wirkung. Der Wallach litt ganzjährig unter anhaltendem starken Juckreiz am ganzen Körper, vor allem aber im Bereich des Thorax und der Sattelgurtlage. Durch Beißen fügte sich der Patient selbst Hautverletzungen zu. Da vom vorbehandelnden Tierarzt bereits der Verdacht einer Futtermittelunverträglichkeit geäußert wurde, erhielt das Pferd zur Fütterung Heu und wechselnd verschiedene Zusatzfuttermittel, die speziell für Allergiker ausgezeichnet waren. Alle Futtermittelwechsel führten zu keiner Änderung der Beschwerden.

Adspektion

Der Wallach wies, bis auf den Juckreiz und der damit einhergehenden Nervosität, ein ungestörtes Allgemeinbefinden auf. Das Haarkleid zeigte sich, die lokalen Veränderungen ausgenommen, gleichmäßig und war dabei stumpf und schuppig. Haarlinge konnten nicht gefunden werden. Im Bereich des Thorax und der Sattelgurtlage waren unterschiedlich große, unscharf begrenzte haarlose Stellen, an denen sich die Haut sehr trocken und schuppig darstellte, zu erkennen. Zum Teil fand Depigmentierung und eine Lichenifikation der betroffenen Bereiche statt. An wenigen kleinen Stellen war die Haut blutig gebissen.

Diagnostik

Zur genauen Einschätzung des Gesundheitszustandes folgten eine parasitologische Kotprobenuntersuchung im praxisinternen Labor und eine Blutuntersuchung bei Idexx Laboratories. Die Blutuntersuchung beinhaltete ein großes Blutbild, eine Serumelektrophorese, die klinische Chemie der relevanten Parameter zu den wichtigsten Organfunktionen und zur Abklärung eventuell vorliegender Mangelzustände, die Bestimmung der gängigen Spurenelemente. Zur weiteren Einschätzung der vorliegenden Hautveränderungen wurde eine Haarprobe und Hautbiopate aus fünf Lokalisationen an das „Veterinair Pathologisch Diagnostisch Centrum“ der Universität Utrecht übersandt.

Befunde

Die parasitologische Untersuchung ergab einen negativen Befund. Die Blutuntersuchung zeigte einen Selenwert im unteren Grenzbereich ($1,08 \mu\text{mol/L}$, Referenz $1,27\text{--}2,54 \mu\text{mol/L}$) und eine geringgradige Verminderung der Segmentkernigen Granulozyten ($2000/\mu\text{L}$, Referenz $3000\text{--}7000/\mu\text{L}$). Diese Abweichungen haben wenig klinische Relevanz und sind nicht ursächlich für das Krankheitsgeschehen. Die weiteren untersuchten Blutwerte waren unauffällig. Eine Pilzinfektion konnte ausgeschlossen werden. Die histopathologische Untersuchung ergab eine milde epidermale Hyperplasie mit einer superfiziellen und infundibulären orthokeratotischen Hyperkeratose und Acanthose. Gelegentlich zeigten sich kleine interkorneale Pusteln ohne Acantholyse. In der superfiziellen Dermis wurden multifokale entzündliche Infiltrate, hauptsächlich mit perivaskulärer

Verteilung angetroffen. Diese bestanden aus Lymphozyten, fibro-histiozytischen Zellen und Eosinophilen Granulozyten.



Abb. 1: Veränderungen im Bereich der rechten Satteltgurtlage

Diagnose

Die Befunde sprachen für eine moderate bis deutliche chronische perivaskuläre Dermatitis mit Verdacht auf allergischer Genese. Aufgrund der klinischen Diagnose im Zusammenspiel mit dem Vorbericht wurde die Verdachtsdiagnose „Futtermittelnunverträglichkeit“ gestellt.

Therapie

Zur Bestätigung der Diagnose wurde eine alleinige Heudiät mit Weidegang durchgeführt. Die Supplementierung mit den Spurenelementen Kupfer, Zink und Selen gestaltete sich insofern schwierig, da alle derzeit kommerziell erhältlichen Mineralfuttermittel Zusätze enthielten, die aufgrund der Verdachtsdiagnose dem Pferd nicht zugeführt werden sollten. Alternativ wurden 1x täglich 100 Gramm eines Minerallecksteins (Mineral-Leckstein, Fa. Eggersmann) in Wasser gelöst und das Heu damit übergossen.

Verlaufskontrollen und weitere Fütterung

Im Juli 2017 konnte eine deutliche Verbesserung der Symptomatik und des Hautbildes festgestellt werden. Laut Aussagen der Besitzerin kam der Juckreiz erst nach Ausschluss des Pferdes vom Weidegang zum vollständigen Erliegen. Daher sollte bei diesem Patienten auch eine allergische Reaktion auf Weidegras oder eine Atopie als weitere Komponente des allergischen Geschehens in Betracht gezogen werden.

Im November 2017 wurde zur Kontrolle der Spurenelementversorgung eine Blutuntersuchung durchgeführt. Es zeigte sich ein deutlicher Mangel an Selen ($0,66 \mu\text{mol/L}$) und ein geringgradiger Mangel an Zink ($6,044 \mu\text{mol/L}$, Referenz $6,12\text{-}16,83 \mu\text{mol/L}$). Der Kupferwert ($14,915 \mu\text{mol/L}$, Referenz $7,85\text{-}23,55 \mu\text{mol/L}$) lag im Normbereich. Daraufhin stellte die Besitzerin auf ein flüssiges Ergänzungsfuttermittel (Reformin Liquid, Fa. Höveler) um. Die einzig hierin enthaltenen Zusatzstoffe sind Saccharose und Traubenzucker. Zink ist mit einer Menge von 4000 mg/kg und Selen mit 12

mg/kg enthalten. Das Pferd erhält davon 1x täglich 60 ml vermischt mit einem Apfel, einer Möhre und einer Handvoll kerniger Haferflocken. Ansonsten erhält das Pferd Heu *ad libitum* und weiterhin keinen Weidegang. Eine erneute Blutuntersuchung im März 2019 ergab Zink- (7,482 µmol/L), Selen- (0,991 µmol/L) und Kupferwerte (16,328 µmol/L) im Normbereich.

Bis heute ist der Wallach beschwerdefrei und zeigt laut der Besitzerin einen ausgeglichenen, zufriedenen Charakter.

Diskussion

Grundsätzlich kann jeder Futterbestandteil als allergieauslösender Faktor wirken. Zum Beispiel wird u.a. die Aufnahme von Weizen, Hafer, Gerste oder Weidepflanzen als Ursache genannt (1,2). Dazu kommen verschiedene Bestandteile, wie sie in der Vielzahl an industriell hergestellten Mischfuttermitteln und Ergänzungsfuttermitteln zu finden sind (3). In diesen sind häufig Komponenten enthalten, die der Verdauungsapparat des Pferdes ursprünglich nicht verarbeiten musste, wodurch allergische Reaktionen möglich erscheinen.

Über das Krankheitsbild der Atopie ist bisher wenig bekannt. Denkbar wäre hier eine Beteiligung an der allergischen Reaktion. Auf der Weide frisst der Patient nicht nur Weidegras, sondern atmet auch die Gras-, Unkraut- und andere Pollenarten ein. Einzig eine Inhalation dieser Antigene wirkt auslösend. Die betroffenen Tiere zeigen dann ganzjährig oder saisonal abhängig starken Juckreiz, eventuell verbunden mit der Bildung von Urtikaria. Meistens beschränken sich die Symptome auf Bereiche an Kopf, Ohren, Rumpf und Gliedmaßen (2). Schlussendlich kam der Juckreiz des Patienten erst zum Erliegen, als das Pferd ausschließlich auf dem Sandpaddock gehalten wurde, und somit nicht mehr mit diesen potentiellen Allergenen in Kontakt kam.

Eine eindeutige Bestätigung einer Futtermittelallergie oder Atopie ist hier, wie in den meisten Fällen nahezu unmöglich. Da es unterschiedliche Ansichten und kritische Meinungen gegenüber der Verlässlichkeit von Intrakutan- und Bluttests gibt (2,4-7), beschränkte sich in diesem Fall die Bestätigung der Diagnose auf den Eliminationstest.

Literatur

1. Littlewood JD. Food Allergy in horse. J. Equine Vet. Sci. 2002;22(3):129.
2. Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan MM, Goehring LS: Immunvermittelte Hauterkrankungen beim Pferd. Pferdeheilkunde. 2001;17(4):346-356
3. Meyer H. Coenen M. Herausgeber. Pferdefütterung. 4. Aufl. Berlin: Parey; 2002. S. 202.
4. Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan MM et al.: Intradermal allergy testing in normal horses. In: Kwochka KW, Willemse T, Von Tscharner C. Herausgeber. Advances in veterinary dermatology. 3. Aufl. Oxford: Butterworth & Heinemann; 1998. S. 564-565.
5. White SD. Advances in Equine Atopic Dermatitis, Serologie and Intradermal Allergy Testing. Clin Tech Equine Pract. 2005;4(4):311-313
6. Leibold W. Allergien bei Pferden: Symptome, Mechanismen, Diagnostik und therapeutische Möglichkeiten. Proceedings der XV. Tagung über Pferdekrankheiten; 14.-15.03.2003; Essen. S. 92-93.
7. Hampel S, Rohwer J, Leinemann H, Schrop C, Esch RE, Leibold W. Der Intrakutantest beim Pferd: Realistischere Betrachtung zur Anwendung – Wissenschaftliche Grundlagen und praktische Durchführung. Pferdeheilkunde. 2008;24(3),381-396

Kontakt

Dr. Kira Gehrke, Tierärztliche Praxis für Pferde Dr. Ulrich Mengeler, Hamminkeln
k.gehrke@dr-mengeler.de

Fälle aus der Praxis II – Wenn das Fell ausfällt!

Katja Roscher

Klinik für Pferde, Innere Medizin; Justus-Liebig-Universität; Gießen

Vorgelegt wurde ein 12-jähriger Vollblutwallach mit großflächiger Alopezie, zunächst ohne das Auftreten von Juckreiz. Nach umfangreicher Diagnostik konnte eine durchaus überraschende Ursache der Alopezie nachgewiesen werden.

Weiterführende Literatur

1. Jubb TF, Graydon RJ. Telogen defluxion associated with hypersensitivity causing alopecia in a horse. *Aust Vet J* 2007;85(1-2):56–58.

Kontakt

PD Dr. Katja Roscher, Klinik für Pferde, Innere Medizin, Klinikum Veterinärmedizin, Justus-Liebig-Universität, Gießen
Katja.Roscher@vet.jlug.de

Spezielle Anatomie und Histologie des M. interosseus medius

Christoph K.W. Mülling

Veterinär-Anatomisches Institut, Universität Leipzig

Einleitung

Das Pferd hat sich im Verlauf von mehr als 50 Millionen Jahren vom Sohlengänger (Plantigradie) zum Zehenspitzen­gänger (Unguligradie) entwickelt. Die damit verbundene erhebliche Verlängerung und Aufrichtung der distalen Gliedmaße bei starker Hyperextension des Fesselgelenks machten die Entwicklung eines sehr leistungsfähigen Fesseltrageapparates und eine sehr belastbare Aufhängung der Zehenspitze in der Hufkapsel (Hufbeinträger) erforderlich. Der Musculus interosseus medius (tertius), der auch als Fesselträger bezeichnet wird, ist das zentrale Bauelement des Fesseltrageapparates und spielt eine wesentliche Rolle für die biomechanische Funktion der distalen Gliedmaße. Er wurde von einem quergestreiften Skelettmuskel im Laufe der Evolution zu einem überwiegend sehnigen und hoch zugbelastbaren Band umgebaut. Über die Gewebezusammensetzung des M. interosseus liegen in der Literatur widersprüchliche Angaben vor. Neuere Arbeiten belegen jedoch ganz klar einen Anteil quergestreifter Skelettmuskultur, der je nach Abschnitt des M. interosseus zwischen 2 und 15%, nach einigen Autoren sogar bei bis zu 40 % liegt [1, 2, 3, 4]. Kenntnisse über Lokalisation und Anteil der Muskulatur sind von großer Bedeutung für die bildgebende Diagnostik. Muskulöse Bereiche sind im MRT signalstärker, im CT weniger röntgendicht und im sonografischen Bild hypoechogen [6].

Der Einsatz des Pferdes im Leistungssport, aber auch im Breitensport führt zu vielfältigen Erkrankungen und Verletzungen des M. interosseus. Erkrankungen treten signifikant gehäuft in seinem Ursprungsbereich auf und werden oftmals durch Überbelastungen ausgelöst. Sie treten häufiger an der Hintergliedmaße auf und haben dort auch eine schlechtere Prognose als an der Vordergliedmaße [5, 6]. Detaillierte anatomische und feinstrukturelle Kenntnisse über den Ursprungsbereich und die weiteren Anteile des M. interosseus sind die Grundlage für erfolgreiche Diagnostik und Therapie von Erkrankungen.

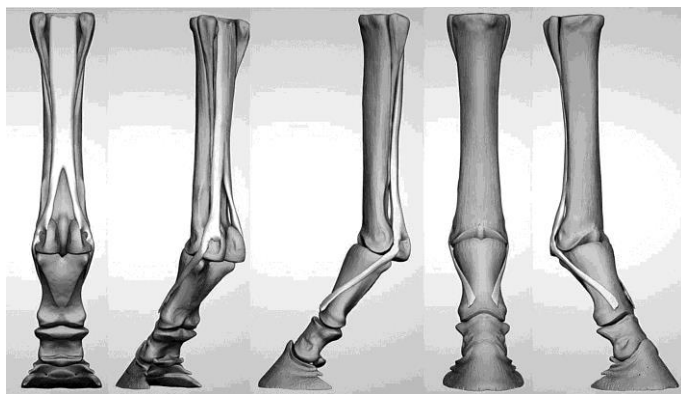


Abbildung 1: M. interosseus medius an der distalen Vordergliedmaße in verschiedenen Ansichten dargestellt im 3-D Modell des EFFIGIOS Hoof Explorer (www.hoofexplorer.com).

Topografie des M. interosseus medius (Abb. 1. u. 2)

Der M. interosseus medius (tertius) entspringt proximal am Metacarpus/Metatarsus. Er liegt zwischen der tiefen Beugesehne und der palmaren/plantaren Fläche des Röhrebeins. Dort verläuft er

als solides Band zwischen dem lateralen und medialen Griffelbein bis zum distalen Drittel des Röhrlbeins. Hier teilt er sich in zwei Schenkel auf, die jeweils am lateralen resp. medialen Sesambein ansetzen. Vom Sesambein zieht jeweils einen schräg dorsal verlaufenden Unterstützungsast zur Strecksehne. An der axialen Seite der Griffelbeinköpfe entspringt je ein rudimentärer M. interosseus lateralis und medialis als dünne Bandstruktur, die am Griffelbein entlang bis als bis zum distalen Griffelbeinknöpfchen zieht. Die Endsehne überquert jeweils das Griffelbeinköpfchen und strahlt in die Faszie resp. in das Fesselringband ein [1, 2, 7].

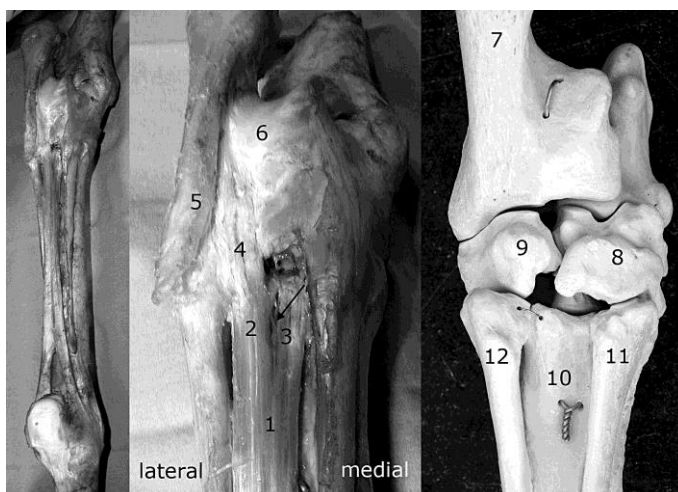


Abbildung 2: M. interosseus medius an der distalen Hintergliedmaße. Links: Übersicht vom Ursprung bis zum Ansatz. Mitte: Ursprünge des M. interosseus. Rechts: Tarsalregion von plantar.

1. M. interosseus (Muskelbauch); 2. Laterale Ursprungssehne; 3. Mediale Ursprungssehne; 4. Proximale laterale lange Ursprungssehne; Pfeil: Muskelhilus; 5. Lig. plantare longum; 6. Gleitfläche auf dem Sustentaculum tali; 7. Calcaneus; 8. Os tarsale I+II; 9. Os tarsale IV; 10. Röhrlbein - MT 3; 11. Mediales Griffelbein - MT 2; 12. Laterales Griffelbein - MT4.

Gliederung und histologische Feinstruktur des M. interosseus (Abb. 2)

Der M. interosseus besteht aus einem Muskelkopf mit Ursprungssehnen, einem Muskelhilus, in den Gefäße und Nerven eintreten, einem Muskelbauch und einem Muskelende mit 4 Endsehnen. Letzteres sind die paarige Ansatzsehne an den Gleichbeinen (Fesselträgersehnen) und die beiden Unterstützungssehnen (-äste) zur Strecksehne [1, 2, 7].

Der Kopf des M. interosseus entspringt mit je einer kurzen lateralen und medialen Sehne proximopalmar/-plantar aus dem Röhrlbein. Hier ist er rein sehnig. An der Hintergliedmaße existiert eine zusätzliche proximale lange Ursprungssehne, die in der älteren Literatur nicht beschrieben ist [1, 2, 3]. Diese überlagert und verdeckt die laterale kurze Ursprungssehne am Röhrlbein. Sie ist 7-8 cm lang, 8-9 mm breit und 4-5 mm dick. Sie entspringt am Calcaneus und am Lig. plantare longum und zieht axial über das Os tarsale quartum. Sie fusioniert dann am proximalen Rand des Röhrlbeins mit der kurzen lateralen Sehne, die dadurch deutlich verstärkt wird (Abb. 2) [1, 2]. Die lange Ursprungssehne bildet im Bereich des 4. Tarsalknochens ein faserknorpeliges Gleitlager aus.

Der Hilus des M. interosseus liegt ca. 1cm distal des Muskelursprungs am Röhrlbein zwischen der Fusion der lateralen und medialen Ursprungssehne. Hier treten Blutgefäße und ein Ast des N. medianus und des N. ulnaris an der Vordergliedmaße resp. des N. tibialis an der Hintergliedmaße in den Muskel ein. Im Hilusgebiet finden sich eingelagerte Muskelgewebsareale, die im Querschnitt die Form einer abnehmenden (lateral) und zunehmenden (medial) Mondsichel haben. Der Muskelbauch ist durchgehend paarig angelegt. Hier sind die Muskelgewebsanteile in Zick-Zack-Form eingelagert.

Proximal im Übergang vom Hilus in den Bauch sind die Muskelfasern am deutlichsten ausgeprägt, der Anteil an Muskulatur ist am größten. Histologisch handelt es sich um quergestreifte Skelettmuskulatur. Dieses ist in lockeres Bindegewebe eingebettet, das Leitungsstrukturen enthält. Die Anzahl der Gefäße und Nerven nimmt von proximal in der Hilusregion nach distal zu den Endschenkeln fortlaufend ab.

Die Muskelenden gehen distal aus dem Muskelbauch hervor. Direkt distal der Aufteilung sind zentral noch Reste von Muskelgewebe vorhanden. Die mittleren und distalen Abschnitte der Fesselträgerschenkel bestehen dann nur aus Sehnengewebe.

Der weitgehend sehnige *Musculus interosseus medius* des Pferdes ist ein zweiköpfiger Muskel. Das ist eindeutig an paarigen Einschlüssen von quergestreifter Skelettmuskulatur zu erkennen, die sich im MRT Bild signalintensiver darstellen. Es liegt keine vollständige Metaplasie des quergestreiften Muskelgewebes in Bindegewebe vor. Der *M. interosseus* sollte daher korrekterweise nicht als reines Band bezeichnet werden. Das abschnittsweise Auftreten von Muskelgewebe in typischer Lokalisation, Konfiguration und Menge muss bei der bildgebenden Diagnostik berücksichtigt werden um Fehlinterpretationen und Fehldiagnosen zu vermeiden.

Literatur

Weitere Literatur ist auf Anfrage beim Verfasser erhältlich.

1. Kaminski M. Histologische Untersuchung der Normalstruktur der Beugesehnen und des Fesselträgers beim Pferd. Zürich: Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich; 2006.
2. Schulze T. Magnetresonanztomographische, computertomographische und histologische Untersuchungen zum *M. interosseus medius* der Beckengliedmaße des Pferdes [Dissertation]. Berlin: Frei Universität Berlin; 2007.
3. Schulze T, Budras K-D. Zur klinisch-funktionellen Anatomie des *M. interosseus medius* der Hintergliedmaße im Hinblick auf die Insertionsdesmopathie des Pferdes – Kernspin-, computertomographische- und morphologische Untersuchungen. *Pferdeheilkunde* 2008;24(3):343-350.
4. Weingart I. Untersuchungen zur Innervation und Vaskularisation des *M. interosseus medius* beim Pferd. Zürich: Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich; 2006.
5. Dyson S, Arthur RM, Palmer SE, Richardson D. Suspensory ligament desmitis. *Vet. Clin. North. Am. Equine Pract.* 1995;11:177-215.
6. Rikenhuizen AB, Gietemann IV, van den Reijdt TCM. Desmitis des Fesselträgers und Desmopathie des Fesselträgerursprungs an der Vorder- und Hintergliedmaße des Pferdes – eine retrospektive Studie über die Erfolge unterschiedlicher Behandlungen in der Praxis. *Pferdeheilkunde* 2007;23:357-365.
7. Mülling Ch, Pfarrer Ch, Reese S, Kölle S, Budras K-D. Atlas der Anatomie des Pferdes. 7. Auflage. Schlütersche Verlagsgesellschaft, Hannover, 2014.
8. Homepage des Hoof Explorer der Firma Effigos: www.hoofexplorer.com

Kontakt

Prof. Dr. Christoph K. W. Mülling, Veterinär-Anatomisches Institut, Universität Leipzig
c.muelling@vetmed.uni-leipzig.de.

Pathogenese der Erkrankung des M. interosseus medius

Uta Delling

Klinik für Pferde, Universität Leipzig

Zu diesem Vortrag wurde kein Manuskript eingereicht.

Chirurgische Therapieansätze bei Erkrankung des M. interosseus medius

Michael Röcken

Justus-Liebig-Universität Gießen

Zu diesem Vortrag wurde kein Manuskript eingereicht.

Regenerativmedizinische Therapieansätze bei Erkrankung des M. interosseus medius

Florian Geburek

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

Zu diesem Vortrag wurde kein Manuskript eingereicht.

Alternative Therapieansätze bei Erkrankung des M. interosseus medius

Mathilde Pluim^{1,2}, Katrien Vanderperren³, Ann Martens⁴, Rene Van Weeren⁵, Jeroen Dewulf⁶, Catherine Delesalle¹, et al.

¹Department of Virology, Parasitology & Immunology, Research Group Comparative Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Merelbeke, Belgium; ²Tierklinik Lüsche GmbH, Bakum, Germany, ³Department of Veterinary Medical Imaging and Small Animal Orthopedics, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Merelbeke, Belgium; ⁴Department of Surgery and Anaesthesiology of domestic animals, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Merelbeke, Belgium; ⁵Department of Equine Sciences, Utrecht University, Yalelaan 1, Utrecht, the Netherlands; ⁶Department of obstetrics, Reproduction and herd health, Unit veterinary epidemiology, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Merelbeke, Belgium

Einführung

Die Prävalenz von Sehnenentzündungen bei Sportpferden ist hoch und nicht selten bedeuten sie das vorzeitige Ende der sportlichen Karriere, trotz Behandlung (1,2).

Eine ziemlich neue Behandlungsmöglichkeit in der Tiermedizin ist die High-Power-Lasertherapie. In der Humanmedizin konnte diese Therapie schon vielfach erfolgreich eingesetzt werden. *In vivo*- und *in vitro*-Studien berichten die positiven Effekte des Lasers, wie die erhöhte Proliferation von Fibroblasten, die Stimulation der Kollagenproduktion, die Verbesserung der Kollagenfaserausrichtung, eine Erhöhung der Zugfestigkeit und Bildung von Kollateralzirkulation und Angiogenese, eine Reduzierung der COX-2 Expression und proinflammatorische Mediatoren (3-5).

Im 2018 publizierten wir in einer klinischen Studie mit 150 Pferden. Für verschiedene Sehnen-Verletzungen, die mit einem Multifrequenz-Laser der Klasse 4 behandelt wurden, wurde die Kurzzeit und Langzeit Auskünfte beschrieben. Die Therapie scheint sehr vielversprechend: die Lahmheit und Ultrasonografische Gradierung zeigten eine signifikante Verbesserung ab 2 Wochen nach Therapieanfang. Die Rezidivrate nach 6-, 12- und 24 Monaten war niedrig. Außerdem war eine kürzere Rehabilitationsperiode möglich (6).

Um die biostimulierende Wirkung des Lasers bei einer Sehnenentzündung beim Pferd nachzuweisen, wurde eine standardisierte Untersuchung durchgeführt.

Material und Methode

Bei 12 lahmheitsfreien, erwachsenen Warmblutpferden (4-12 Jahre) wurde unter Vollnarkose eine Kernläsion in allen 4 lateralen Fesselträgerästen, mit einem Arthrex Shaver, nach einem modifizierten Verfahren nach Schramme et al (7), kreiert. Anschließend wurden die Pferde für eine Woche longiert, um eine Entzündungsreaktion zu simulieren (7). Diese Pferde bekamen nach der Operation täglich über 4 Wochen high-power Lasertherapie auf 2 der 4 geschädigten Fesselträgeräste (entweder vorne links und hinten rechts, oder vorne rechts und hinten links) während die kontralateralen lateralen Fesselträgeräste als Kontrolle dienten. Klinische Zeichen wie Wärme, Schwellung, Druckempfindlichkeit und Belastung wurde täglich registriert. Es wurden Ultraschalluntersuchungen mit Doppler vor, während (wöchentlich) und nach der Therapie (monatlich) durchgeführt. Die Kurzzeitgruppe (6 Pferde) wurde direkt nach Therapiebeendigung (4 Wochen) eingeschläfert. Die Langzeitgruppe (6 Pferden) wurde nach Therapiebeendigung weiter rehabilitiert und nach 6 Monaten eingeschläfert. Eine MRT Untersuchung wurde an den Kadaverbeinen mit einem Achieva 3T (Philips ®) durchgeführt. Die morphematische Beurteilung, auf den T1 Bildern, wurde von 3 unabhängigen, verblindeten Untersuchern evaluiert. Oberfläche der

Läsion- und Sehne wurde auf 3 unterschiedliche Niveaus gemessen: 2, 4 und 6 cm proximal vom Gleichbein. Die Signalstärke wurde an Hand der PD fatsat Bilder gemessen mithilfe einer Siemens MR-console. Es wurde von allen 3 Beurteilern jeweils 3 Messungen durchgeführt. Die Ultraschalluntersuchungen wurden mittels Videoclips und Bildern gespeichert, und von einem verblindeten Untersucher evaluiert. Parameter wie Oberfläche, Länge und Durchmesser der Läsion, Oberfläche und Durchmesser der Sehne, Echogenisität und Doppler Signal wurden gemessen. Das Dopplersignal wurde auf aufgehobenes Bein gemessen und quantifiziert in 6 Gradierungen (0-5). Die Gradierungen 2-5 galten als erhöhtes Signal. Eine statische Analyse wurde durchgeführt.

Resultate

Er gab keine operativen Komplikationen. Belastung war bei alle Pferden unauffällig. Hochgradig vermehrte Wärme, Schwellung oder Druckempfindlichkeit wurde nicht wahrgenommen.

Ultraschall

Der Durchmesser der Läsion war kleiner in der behandelten Gruppe. Dieser Unterschied ist signifikant bei T6 und T7 (2 und 3 Monaten). Die Entwicklung der Durchmesser zum Endstadium der Kurz- und Langzeitstudien (4 Wochen für die Kurzzeitstudien, und 6 Monate für die Langzeitstudien) war im Vergleich zum Therapieanfang signifikant besser in der behandelten Gruppe (0,047).

Die Länge und Oberfläche der Läsion war kleiner in der behandelten Gruppe (nicht signifikant, $P > 0,05$). Die Entwicklung der Länge und der Oberfläche der Läsion in der Kurzzeitstudie ist aber signifikant besser (0,010 und 0,016).

In der behandelten Gruppe war die Chance auf ein erhöhtes Dopplersignal signifikant höher während der Laserbehandlungsperiode (Wald, log Regression $< 0,001$).

MRT

Die Signalstärke (PD fatsat) ist signifikant niedriger in den behandelten Fesselträgerästen versus die Kontrollgruppe (UNIANOVA, 0,006).

Der Oberfläche der Läsion auf Höhe 4 cm war signifikant kleiner in den behandelten Fesselträgerästen (UNIANOVA 0,002). Bei 2 cm und 6 cm war dieser Unterschied nicht signifikant. Die Oberfläche und Durchmesser der Sehne war nicht signifikant unterschiedlich. Zwischen den 3 unterschiedlichen Untersuchern gab es keine signifikanten Unterschiede.

Diskussion

Es wurde keine hochgradigen Schwellungen, Wärme oder Druckempfindlichkeit bei der täglichen klinischen Untersuchung wahrgenommen, wie in der Literatur bei Tendinitis und Desmitis beschrieben wird (1,2). Das kann man erklären weil in dieser Studie die Läsionen unter standardisierten Bedingungen mechanisch gemacht worden sind und eine natürliche Entzündungsreaktion fehlt.

Bei den Ultraschalluntersuchungen ist in verschiedenen Wegen die Größe der Läsion ausgedrückt. Erstens wurde der Durchmesser der Läsion auf einem Längsbild gemessen. Diese sind kleiner in der behandelten Gruppe (signifikant zum Zeitpunkt von 2 und 3 Monaten). Wenn man die Entwicklung der Läsion vom Startpunkt der Behandlung bis zum Endpunkt der Studien analysiert, zeigt sich ein signifikanter Unterschied (0,047). Die Läsion vergrößert sich über die Zeit, und nimmt zum Schluss, in der Langzeitstudie, wieder ab. In der behandelten Gruppe vergrößert sich die Läsion weniger und nimmt in der Langzeitstudie stärker ab.

Auch der Verlauf der Länge und Oberfläche der Läsion ist ähnlich wie bei dem gemessenen Durchmesser der Läsion auf einem Längsbild. In der Kurzzeitstudie ist dieser Unterschied zwischen Behandlungsgruppe und Kontrollgruppe signifikant sowohl für die Länge- als Oberfläche der Läsion

(0,010 bzw 0,016) Man sieht, dass alle 3 oben beschriebenen Messmethoden vergleichbare Auskünften geben.

In dieser Studie wurde auch nachgewiesen, dass die Signalstärke im MRT am Kadaverbein in der behandelten Gruppe niedriger ist, als im Vergleich mit der Kontrollgruppe. Eine pathologische Sehne zeigt sich mit einem erhöhten Signal in einer PD fatsat Untersuchung. Weil das Signal sowohl im akuten Stadium (Kurzzeitstudien) als auch im chronischen Stadium (Langzeitstudien) signifikant niedriger ist in der behandelten Gruppe, ist das ein Hinweis auf verbesserte Heilung durch Lasertherapie.

Die gemessene Oberfläche der Läsion im MRT ist in der behandelten Gruppe signifikant kleiner, jedoch nur bei von 4 cm (0,002). Die mechanisch kreierte Läsion ist ursprünglich 4 cm lang. Der Shaver ist auf Höhe von 2 cm proximal von Gleichbeines eingebracht, und aufgeschoben bis auf 6 cm. Die Messungen der Läsion sind distal im Bereich von (2cm), proximal (6cm) und mittig (4cm) gemacht worden. Weil die Läsionen auf 2 und 6 cm manchmal kaum darstellbar waren, war diese mittig (4cm) immer deutlich darzustellen war. Auf dieser Höhe wird dann auch der Unterschied in der Heilung deutlicher nachweisbar sein.

Das Dopplersignal war signifikant öfter erhöht (Gradierung 2-5) in der behandelten Gruppe während der Laserbehandlungsperiode. (Wald, log Regression <0,001) Erhöhte Bildung von Kollateralzirkulation und Angiogenese wurde auch in Studien mit Lasertherapie in Versuchstieren nachgewiesen (5).

Die Unterschiede der gemessenen Parameter in der Ultraschalluntersuchung sind ausgeprägter in der Kurzzeitstudie als in der Langzeitstudie. Erklärung dafür waren einerseits die höhere Anzahl der Messungen in die Kurzzeitstudien (6 Pferden Kurzzeit + 6 Pferden Langzeit) im Vergleich mit der Langzeitstudie (6 Pferden), und andererseits ein stärkerer Effekt während der Lasertherapie als nachdem.

Einschränkungen der Studien

Bei den Studien wurden chirurgische, standardisierte Läsionen geschaffen. Die Entzündungsreaktion, wie sie bei natürlichen Sehnenschädigungen auftritt ist nicht automatisch vorhanden. Auch ist entwickeln sich die Läsionen genau gleich zwischen den unterschiedlichen Pferden und Beinen. Diese Studien erhielt eine Zustimmung der Ethikkommission der Universität Gent (LA1400077).

Schlussfolgerung

In diesen standardisierten Studien wurde nachgewiesen, dass Lasertherapie vielversprechend ist: die Ergebnisse im MRT- und Ultraschall zeigen signifikant positive Ergebnisse auf verschiedenen Parametern für die behandelten Sehnen. Momentan werden histologische Untersuchungen der betreffenden Sehnen durchgeführt um die bildgebenden Verfahren auf struktureller Ebene zu unterstützen.

Literatur

1. Dyson SJ, Arthur RM, Palmer SE, et al. Suspensory ligament desmitis. Vet Clin North Am Equine Pract. 1995; 11: 177–215.
2. Dyson SJ, Management of superficial flexor tendon tendinitis: a comparative study in 219 horses (1992-2000) Equine Vet. J. 36, 415-419
3. Marcos RL, Leal-Junior EC, Arnold G, Magnenet V, Rahouadj R, Wang X, Demeurie F, Magdalou J, de Carvalho MH, Lopes-Martins RA. Low-level laser therapy in collagenase-induced achilles tendinitis in rats: Analyses of biochemical and biomechanical aspects. J Orthop Res 2012 Dec;30(12):1945-51.

4. Casalechi HL, Leal-Junior EC, Xavier M, Silva JA, Jr, de Carvalho Pde T, Aimbire F, Albertini R. Low-level laser therapy in experimental model of collagenase-induced tendinitis in rats: Effects in acute and chronic inflammatory phases. *Lasers Med Sci* 2013;28(3):989-95.
5. Maegawa Y, Itoh T, Hosokawa T, Yaegashi K, Nishi M. Effects of near-infrared low-level laser irradiation on microcirculation. *Lasers Surg Med* 2000;27(5):427-37.
6. Pluim M, Martens A, Vanderperren K, Sarrazin S, Koene M, Luciani A, van Weeren PR, Delesalle C. *Research in Veterinary Science* 119 (2018) 232-238
7. M. Schramme, S. Hunter, N. Campbell¹, A. Blikslager, R. Smith, A surgical tendonitis model in horses: Technique, clinical, ultrasonographic and histological characterization, *Vet Comp Orthop Traumatol* 4/2010

Kontakt

M Pluim, Tierklinik Lüsche, Bakum, Deutschland
mpluim@tierklinik-luesche.de

Orthopädische Therapiekonzepte zur unterstützenden Behandlung bei Erkrankung des M. interosseus medius und der Beugesehnen - Wirkung und Limitationen

Jenny Hagen^{1,2}, Daniela Mäder¹, Sandra Geiger³, Kaid Kojah¹

¹Veterinär-Anatomisches Institut, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig, Deutschland;

²Klinik für Pferde, Lehrschmiede, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig, Deutschland;

³Institut für Topographische Anatomie, Veterinärmedizinische Universität, Wien, Österreich

Lahmheiten sind eine der Hauptursachen für Leistungsminderung und Ausfall der Pferde in ihrer jeweiligen Nutzung, wobei die meisten Lahmheiten mit Schäden an der distalen Gliedmaße verbunden sind (Bertone 2011; Kane et al. 2000; Murray et al. 2010; Dyson 2001). Das häufige Auftreten von orthopädischen Erkrankungen und die damit verbundenen Schmerzen und Leiden, sind daher als ernst zu nehmendes tierschutzrelevantes Problem anzusehen.

Orthopädische Maßnahmen –biomechanische Ansätze von Beschlagsmodifikationen

Neben der Prävention, Diagnostik und medikamentellen Behandlung von Lahmheiten spielt die korrekte Anwendung orthopädischer Maßnahmen und das Management des Patienten eine entscheidende Rolle für den Erfolg der Therapie (Floyd und Mansmann 2009). Dabei ist der Einsatz von Beschlagsmodifikationen zur Beeinflussung der Zehenknochenausrichtung einer der Hauptansätze zur Unterstützung der Behandlung von orthopädischen Erkrankungen (Willemens et al. 1999; Denoix et al. 2007). Das Ziel ist durch die Veränderung der Ausrichtung von Knochen und Gelenken die ansetzenden Sehnen und Bänder spezifisch zu entlasten. Es wird davon ausgegangen, dass Änderungen des Hufbeinwinkels sich auf den Winkel von Huf- und Fesselgelenk auswirken (Crevier-Denoix et al. 2001). Es besteht die Annahme, dass eine steilere Stellung des Hufes eine Zunahme der Beugung im Hufgelenk und eine Streckung des Fesselgelenkes nach sich zieht. Dies bedingt laut Aussage der entsprechenden Arbeitsgruppen eine Entlastung der Tiefen Beugesehne und der Hufrollenregion, wohingegen der Fesselträger und die Oberflächliche Beugesehne verstärkt belastet werden (Lawson et al. 2007).

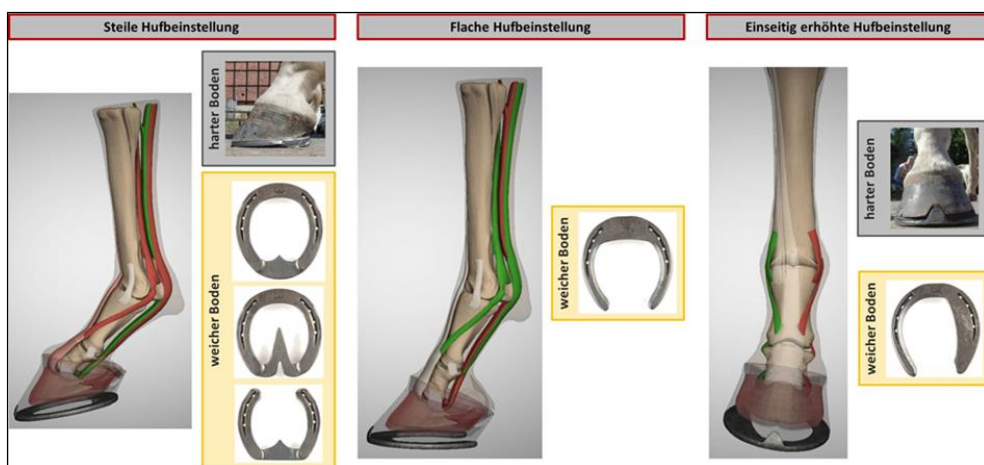


Abb. 1: Vorausgesetzte Wirkung orthopädischer Beschlüge auf die Ausrichtung der Zehenknochen zur gezielten Entlastung erkrankter Sehnen und Bänder

Eine flachere Hufbeinstellung soll gegenteiliges bewirken (Crevier-Denoix et al. 2001; Degueurce et al. 2001). Diese Ansätze sind die Grundlage für die Anwendung verschiedener Beschlagsmodifikationen (Abb. 1).

Zum einen soll durch eine Erhöhung einzelner Hufabschnitte (Trachtenkeil, Seitenkeil) auf die Hufbeinausrichtung eingewirkt werden, um die tiefe Beugesehne, die Hufrolle und, bei einseitiger Anwendung, die Kollateralbänder zu entlasten. Zum anderen werden Modifikationen der lastaufnehmenden Fläche des Hufeisens vorgenommen, um das Einsinken definierter Hufabschnitte in weichen Untergrund zu beeinflussen (Eier-, Herz-, Fesselträger-, Breitschenkeleisen) und damit einen Effekt auf die Ausrichtung der distalen Gliedmaße zu erreichen (Hüppler et al. 2016; Hagen et al. 2017; Hagen et al. 2016).

Wissenschaftliche Untersuchungen zur Wirkung von Beschlagsmodifikationen

Trotz des vielseitigen Einsatzes orthopädischer Beschläge in der Praxis, wurde die Wirkung etablierter Beschlagsmodifikationen auf die Ausrichtung der Zehenknochen, um eine gezielte Entlastung erkrankter Sehnen, Bänder und Gelenke zu erreichen, kaum unter praktisch relevanten Bedingungen untersucht. Einige Arbeitsgruppen untersuchten durch die Anfertigung von Röntgenaufnahmen den Einfluss von verschiedenen hohen Keilen auf die Knochenausrichtung (Crevier-Denoix et al. 2001; Degueurce et al. 2001). Allerdings ohne Berücksichtigung von in der Praxis eingesetzten Beschlägen und Bodenbeschaffenheiten. Zudem bilden Röntgenaufnahmen nur ein 2D Bild komplexer 3D Struktur ab und stellen nur eine Momentaufnahme dar. Weitere Fehlerquellen, wie die Ausrichtung des Zentralstrahls, die Positionierung des Pferdes, die Belastung der Gliedmaße und die Genauigkeit der Auswertung, limitieren die Nutzung von radiologischen Messungen zur Erfassung des Effektes von Beschlägen auf die Zehenknochenausrichtung. Untersuchungen in Bewegung über einen längeren Zeitraum mit der Möglichkeit einer 3D Rekonstruktion der Knochensäule stellen eine Optimierung der Methodik dar.

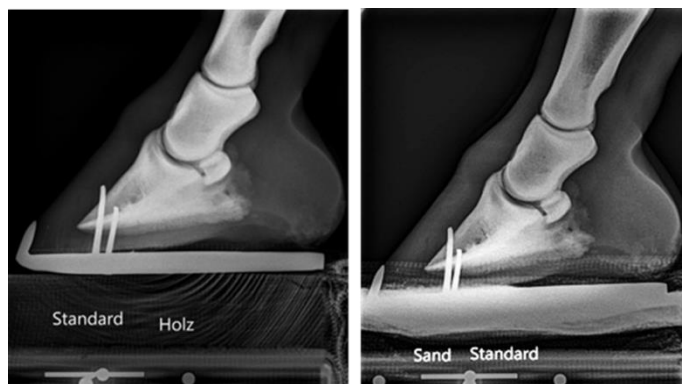


Abb. 2: Röntgenbild der Pferdezehe (90°) auf einem Metron-Röntgenblock mit hartem und weichem Untergrund zur quantitativen Auswertung der Röntgenbilder zu Vergleich der Wirkung orthopädischer Beschläge auf die Zehenknochenausrichtung

Daher waren die Ziele der im Folgenden vorgestellten Studie:

1. Die Untersuchung des Effektes von praxisrelevanten Beschlagsmodifikationen auf die Ausrichtung der Zehenknochen mit der traditionellen Röntgentechnik in Statik unter Berücksichtigung verschiedener Bodenbeschaffenheiten (hart, weich) (Abb.2).
2. Die Nutzung der Hochfrequenzfluoreszenzkinematographie (FluoKin) (Hochgeschwindigkeitsröntgenvideographie) zur Untersuchung des Effektes von Beschlagsmodifikationen auf die Ausrichtung der Zehenknochen in Bewegung (Abb.3).

- Die Untersuchung der Wirkung von Zehen- und Trachtenkeilen auf die Winkelung des Fesselgelenks und der Beugesehnenquerschnitte mittels Ultraschall zur Erfassung der Sehnenspannung in Abhängigkeit von der Hufstellung (Abb. 4).

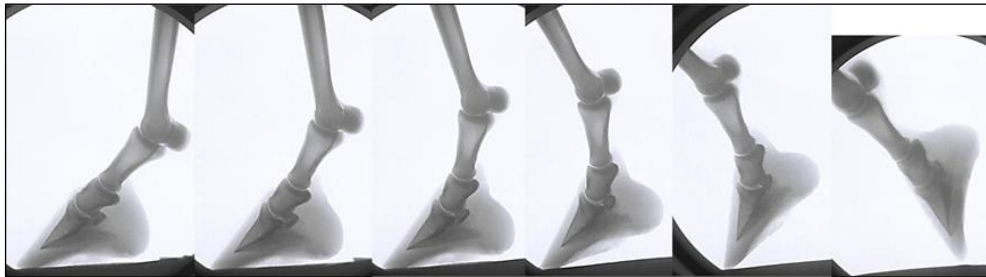


Abb. 3: Uni-planare Hochfrequenzfluoreszenzkinematographie Aufnahme der distalen Pferdegliedmaße im Schritt

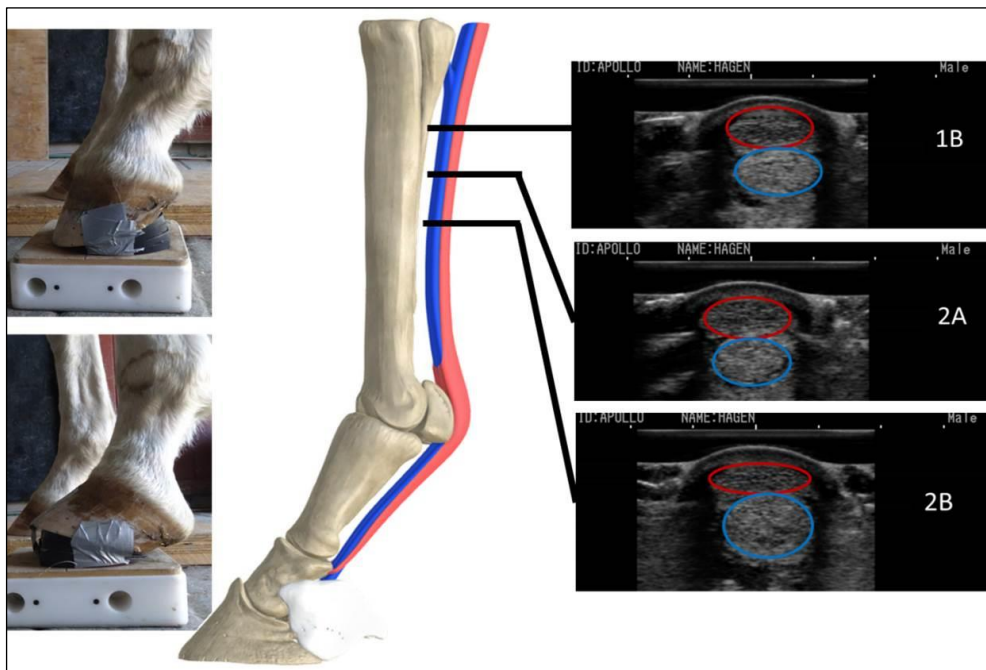


Abb. 4: Untersuchung der Beugesehnenquerschnitte in Abhängigkeit von der Verwendung von Trachten und Zehenkeilen.

Mit diesen Untersuchungstechniken sollten die folgenden Hypothesen verifiziert werden:

- Eine **steilere Hufstellung** bewirkt eine Beugung im Hufgelenk und eine Zunahme der Streckung des Fesselgelenkes (**orthopädisches Ziel:** Entlastung der tiefen Beugesehne + Hufrolle, **Nebenwirkung:** Belastung des Fesseltrageapparates)
- Eine **flachere Hufstellung** bewirkt eine Abnahme der Streckung des Fesselgelenkes und eine vermehrte Extension im Hufgelenk (**orthopädisches Ziel:** Entlastung des Fesseltrageapparates, **Nebenwirkung:** Belastung der tiefen Beugesehne + Hufrolle)

3. Die **Bodenbeschaffenheit** hat maßgeblichen Einfluss auf die Wirkung von orthopädischen Beschlägen auf die Ausrichtung der Zehenknochen.
4. Die **individuelle Zehenkonformation und Sehnensteifigkeit** wirkt sich auf die Responsivität der Gelenkwinkel gegenüber orthopädischen Beschlägen aus.

Studiendesign und Methodik

1. Für die Studie wurden insgesamt 25 Warmblutpferde zufällig auf 5 Gruppen verteilt, welche ausgeschnitten und anschließend barhuf sowie mit einem Standardhufeisen und zwei modifizierten Hufeisen beschlagen und wie unten beschrieben untersucht wurden. In jeder Gruppe wurden unterschiedliche Beschlagsmodifikationen untersucht. Barhuf sowie der Standardbeschlag dienten als Referenz für die spätere Auswertung der Daten. Alle Messungen wurden an der Vordergliedmaße durchgeführt. Die radiologische Untersuchung erfolgte mit einem digitalen Röntgensystem (Gierth X-Ray international, Riesa, Detektor Canon CXDI-80C). Die Pferde wurden mit beiden Vorderbeinen parallel auf gleiche Höhe (9cm) gestellt. Der Röntgenblock, auf dem die zu untersuchende Gliedmaße stand, wurde so modifiziert, dass harter (Holzblock) und weicher Untergrund (Polster) simuliert werden konnten. Auf diese Art wurden 90°- und 0°-Aufnahmen der Zehe angefertigt. Die Auswertung erfolgte mit der Software Metron Hoof (Eponatech). Es wurden die Hufbeinstellung, Ausrichtung von Kron- und Fesselbein sowie die Gelenkspaltsymmetrie des Hufgelenks ermittelt.
2. Für die Messungen mit der High Speed Fluoroscopic Kinematography (FluoKin) standen vier Ponys zur Verfügung. Diese wurden barhuf sowie beschlagen mit einem Standardhufeisen und neun Hufeisenmodifikationen untersucht. Mit Hilfe der FluoKin-Anlage ist es möglich die Knochen der distalen Gliedmaße radiologisch in Bewegung darzustellen - ähnlich einer Röntgenvideographie. Zwei Röntgenquellen, zwei Röntgenbildwandler und entsprechende Kameras ermöglichen die bildsynchrone Aufzeichnung einer Bewegungssequenz von bis zu 6s mit je 500 Bildern/s. Aus den biplanaren Messungen kann mit Hilfe eines Knochenmodells, welches durch CT-Messungen erstellt wird, eine 3D Rekonstruktion der Knochen im Bewegungsablauf errechnet werden. Es folgt die Berechnung der Ausrichtung der Knochen im Raum in Dynamik unter Verwendung der verschiedenen Beschläge. Auch auf weichem Untergrund, verbunden mit Einsinken des Hufes, ist die direkte Darstellung des Hufbeinwinkels möglich. Diese Option blieb bisher mit herkömmlichen kinematographischen Methoden verwehrt.
3. An 35 Pferde verschiedener Rassen (13 Deutsches Warmblut, 2 Oldenburger, 5 Pura Raza Espanola, 10 Mix, 135–178 cm, 4-25 Jahre) wurde der dorsale Hufwinkel (mit Dallmer Hufwinkelmesser ®) und die Widerristhöhe ermittelt. Nachfolgend wurden an beide Vorderhufe aller Pferde Trachten- und Zehenkeile verschiedener Höhen angebracht (5°, 10°, 20°). Es erfolgten radiologische und sonographische Untersuchungen barhuf und unter Verwendung jedes Keils. Im Fokus der radiologischen Messung (90° Aufnahme Huf/distale Zehe, 90° Aufnahme Fesselgelenk) stand die Ermittlung des Hufbeinwinkels, Winkelung und Länge von Kron- und Fesselbein sowie des Fesselgelenkwinkels. Mittels Ultraschall wurde der Querschnitt der Oberflächlichen und tiefen Beugesehne an 3 Stellen des Metakarpus ermittelt.

Beschlagsmodifikationen – Möglichkeiten und Einfluss

Die Ergebnisse der durchgeführten Studien zeigen, dass **sowohl in der Statik, als auch im Schritt während der Hauptstützphase eine reproduzierbare, gezielte Beeinflussung der Hufbeinstellung und damit des Hufgelenkwinkels durch Beschlagsmodifikationen zu erreichen** ist. Die Verwendung von Trachtenkeilen führt sowohl auf hartem, als auch auf weichem Boden zu einer steileren Ausrichtung des Hufes und des Hufbeins. Der Beschlag mit Stegeisen bewirkt, dass auf weichem Boden das Einsinken im palmaren Hufbereich verringert wird und die Zehe verstärkt in den Boden eindringt, was eine steilere Huf- und Hufbeinstellung um 5.77° bis 4.73° zur Folge hat. Eine gezielte Entlastung der tiefen Beugesehne, der Hufrolle und der distalen Zehenbänder ist mit dem geeigneten Beschlag zu erreichen. Der Beschlag mit einem Fesselträgerisen, zeigt seinen Effekt ebenfalls nur auf weichem Untergrund. Durch die verbreiterte Zehe wird das Einsinken der Hufspitze verringert – das Hufbein stellt sich um durchschnittlich 0.9° flacher und die Streckung im Hufgelenk nimmt zu. Das Breitschenkeleisen bewirkt ein einseitiges Einsinken des Hufes und Absinken des Hufbeins, da die unterstützte Hufseite weniger und die kontralaterale Seite verstärkt in den Boden einsinkt. Es zeigt sich damit, dass Strukturen, die direkt mit dem Hufbein assoziiert sind gezielt durch die Verwendung orthopädischer Beschläge beeinflusst werden können. **Sowohl auf hartem, als auch auf weichem Boden lassen sich die vorausgesetzten Effekte der Eisen auf die Ausrichtung von Huf und Hufbein zur Entlastung erkrankter Strukturen bestätigen. Es wurden jedoch lediglich Änderungen des Hufwinkels um 1° - 5° erzielt.**

Die Untersuchung der Wirkung einer veränderten Hufstellung auf die Ausrichtung von Kron- und Fesselbein sowie auf den Fesselgelenkwinkel ergab keine einheitlichen Daten (Hüppler et al. 2016; Hagen et al. 2016; Hagen et al. 2017). **Sowohl im Stand als auch im Schritt zeigten die orthopädischen Beschläge individuell verschiedene oder keine Wirkung auf die Ausrichtung der proximalen Zehenknochen und den Fesselgelenkwinkel.** In einigen Fällen konnte die oben beschriebene Annahme bestätigt werden; bei anderen Tieren kam es zu keinen oder gegenteiligen Reaktionen. Erst bei der Verwendung von **10° und 20° Trachtenkeilen ließ sich eine signifikante Wirkung mit Zunahme der Streckung des Fesselgelenks** nachweisen (Hagen et al. 2018b). Eine flachere Hufstellung durch **Zehenkeile zeigte erst ab einer Umstellung von 20° eine signifikante Abnahme der Streckung des Fesselgelenks.** Die Querschnitte der Beugesehnen ließen sich ebenfalls erst durch die Verwendung der 10° - 20° Keile signifikant beeinflussen. Umstellungen unter 5° zeigten auch auf diese Parameter keine signifikante Wirkung. Beachtlich ist, dass **im Metakarpalbereich tiefe und oberflächliche Beugesehne gleichermaßen auf die Trachten- und Zehenkeile reagieren (Hagen et al. 2018b).** Eine steilere Hufstellung ab 10° führte zu einer deutlichen Zunahme des Querschnitts beider Sehnen, was gleichbedeutend mit einer Abnahme der Spannung ist. Eine gezielte Entlastung der Beugesehnen durch eine steilere Stellung ist anzunehmen. Aus praktischen Erfahrungen hat sich gezeigt, dass jedoch auch ohne Umstellung der Zehenknochen eine Wirkung auf die Belastung des Fesselgelenks und assoziierter Strukturen zu erreichen ist. **Stegeisen** führen zwar **auf festem Boden** zu keiner Umstellung der Zehenknochen, aber mit verlängerter palmarer Unterstützungsfläche stabilisierend auf das Fesselgelenk wirken. Somit lässt sich auch durch diesen Effekt eine Entlastung der Beugesehnen im Bereich des Fesselgelenks erreichen.

Die Anwendung eines 20° Zehenkeils bewirkt sowohl an der tiefen als auch an der oberflächlichen Beugesehne eine Abnahme des Querschnitts, was gleich zu setzen mit einer Zunahme der Spannung an beiden Sehnen ist. Diese Ergebnisse werfen die Frage auf, ob die Umstellung des Hufes durch orthopädische Beschläge mit weniger als 5° einen generell vorauszusetzenden Einfluss auf die Ausrichtung des Fesselgelenks und die Belastung der Beugesehnen im proximalen Bereich hat. **Die Wirkung auf den Fesseltrageapparat und die**

Seitenbänder durch orthopädische Beschläge ist hingegen schwer vorherzusehen und individuell sehr verschieden. Immerhin reagierten ein Drittel der untersuchten Pferde wie von der Gruppe Denoix et al. Beschrieben, die anderen Pferde zeigten hingegen keine oder eine gegenteilige Reaktion. Es stellt sich die Frage, welche Unterschiede zwischen den jeweiligen Tieren dazu führen, dass auf eine Änderung der Hufstellung unterschiedliche Effekte auf den Fesselgelenkwinkel bewirken.

Gesichert ist jedoch, dass die **individuelle Zehenkonformation die Wirkung orthopädischer Beschläge auf den Fesselgelenkwinkel beeinflusst (Hagen et al. 2018a)**. Die individuelle Länge und Winkelung von Huf-, Kron- und Fesselbein korrelieren mit dem Effekt der Beschläge auf die genannten Parameter. **Je länger und flacher gewinkelt Kron- und Fesselbein sind, desto eher tritt eine stärkere Streckung im Fesselgelenks auf, welche sich kaum durch eine Umstellung des Hufes korrigieren lässt. Je steiler das Hufbein bei dem individuellen Pferd ausgerichtet ist und je flacher sich Kron- und Fesselbein zum Boden stellen, desto größer ist die Wirkung der Keile.** Es kann zudem davon ausgegangen werden, dass in schnelleren Gangarten höhere Kräfte wirken, so dass in der Hauptstützphase die angenommenen Effekte verstärkt auftreten. Allerdings sollte Beachtet werden, dass Erkrankungen, die einen orthopädischen Beschlag erfordern zumeist mit Boxenruhe und kontrollierter Bewegung im Schritt verbunden sind. Wenn gegen Ende der Rekonvaleszenzzeit das Training wieder aufgenommen werden soll, ist sowieso eine Anpassung des Beschlagkonzepts erforderlich.



Abb. 5: Kleben von Keilen und Provokationstests helfen bei der Wahl des optimalen Beschlags

Dieser Beitrag soll in keinsten Weise den Nutzen orthopädischer Beschläge absprechen. Es soll nur davor gewarnt werden Pauschallösungen anzuwenden. Die korrekte Wahl und Anwendung verschiedener Beschlagmodifikationen für spezifische Erkrankungen der distalen Gliedmaße ist sehr komplex und bedarf einer genauen Untersuchung eines jeden Patienten im Hinblick auf Zehenkonformation, Bewegungsablauf, Haltung und Stadium der Erkrankung. Provokationstests zur Beurteilung des Bewegungsspielraums der Gelenke und die Nutzung von Keilen zur Ermittlung der Wirkung einer Umstellung auf die Gliedmaße vor dem endgültigen Beschlag können wertvolle Hinweise für die optimale Wahl des Eisens geben Abb. 5. Generell ist bei der Verwendung von orthopädischen Beschlagsmodifikationen davon auszugehen, dass aufgrund des funktionellen Zusammenspiels aller Bauelemente der distalen Gliedmaße die Entlastung eines Abschnitts nicht ohne Wirkung auf den Gegenspieler bleibt. Dabei spielen die Bodenbeschaffenheit, die individuelle Gliedmaßenkonformation und die handwerkliche Umsetzung des Beschlages eine

maßgebliche Rolle in der Ausprägung der jeweiligen Wirkung. Alle Beschläge haben sehr verschiedene Wirkungen auf hartem oder weichem Untergrund sowie in Statik und Bewegung. Die Kommunikation zwischen Tierarzt, Hufschmied und Besitzer bezüglich Diagnose, Therapie und Management des Patienten ist ein zentraler Punkt, um den Heilungsverlauf zu optimieren. Zudem ist bei der Anwendung orthopädischer Beschläge zu beachten, dass eine gezielte Diagnostik vorangestellt wird und somit eine indikationsspezifische Verwendung des therapeutischen Beschlages über einen definierten Zeitraum gewährleistet wird.

Literatur

1. Bertone, A. L. (Hg.) (2011): Lameness in the Extremities, The Metacarpus and Metatarsus. In: Baxter, G. M. (ed.) Adams & Stashak's Lameness in horses. 6th Edition. West Sussex: John Wiley & Sons Ltd.
2. Crevier-Denoix, Nathalie; Roosen, C.; Dardillat, C.; Pourcelot, Philippe; Jerbi, Hassen; Sanaa, M.; Denoix, Jean-Marie (2001): Effects of heel and toe elevation upon the digital joint angles in the standing horse. In: Equine Vet J 33 (S33), S. 74–78. DOI: 10.1111/j.2042-3306.2001.tb05364.x.
3. Degueurce, Christophe; Chateau, Henry; Jerbi, Hassen; Crevier-Denoix, Nathalie; P. Pourcelot; Fabrice Audigié et al. (2001): Three-dimensional kinematics of the proximal interphalangeal joint: effects of raising the heels or the toe. In: Equine Vet J Suppl 33, S. 79–83.
4. Denoix, Jean-Marie; Chateau, Henry; Nathalie Crevier-Denoix (2007): Corrective shoeing of equine foot injuries. Geneva Congress of Equine Medicine and Surgery. Geneva, Switzerland, 2007.
5. Dyson, S. (2001): Lameness and poor performance in the sport horse: Dressage, show jumping and horse trails. 7th World Equine Veterinary Association Congress. World Equine Veterinary Association. Sorrento, Italy, 2001, zuletzt geprüft am 27.06.2017.
6. Floyd, Andrea; Mansmann, Richard (Hg.) (2009): Hufkrankheiten Diagnostik. Therapie ; orthopädischer Beschlag. 13489. Aufl. s.l.: Urban Fischer Verlag - Nachschlagewerke (191-210, 224-239, 313-320, 353-363, 400, 405-408).
7. Hagen, Jenny; Kojah, Kaid; Hüppler, Michael (2018a): Correlations between the equine metacarpophalangeal joint angulation, toe conformation and cross-sectional areas of the flexor tendons. In: Open Veterinary Journal, accepted, zuletzt geprüft am 15.03.2018.
8. Hagen, Jenny; Hüppler, Michael; Geiger, Sandra M.; Mäder, Daniela; Häfner, Florian S. (2017): Modifying the Height of Horseshoes. Effects of Wedge Shoes, Studs, and Rocker Shoes on the Phalangeal Alignment, Pressure Distribution, and Hoof-Ground Contact During Motion. In: Journal of Equine Veterinary Science 53, S. 8–18. DOI: 10.1016/j.jevs.2017.01.014.
9. Hagen, Jenny; Hüppler, Michael; Häfner, Florian Simon; Geiger, Sandra; Mäder, Daniela (2016): Modifying Horseshoes in the Mediolateral Plane. Effects of Side Wedge, Wide Branch, and Unilateral Roller Shoes on the Phalangeal Alignment, Pressure Forces, and the Footing Pattern. In: Journal of Equine Veterinary Science 37, S. 77–85. DOI: 10.1016/j.jevs.2015.12.001.
10. Hagen, Jenny; Kojah, Kaid; Hüppler, Michael; Vogel, Mandy (2018b): Immediate effects of an artificial change in hoof angulation on the dorsal metacarpophalangeal joint angle and cross-sectional areas of both flexor tendons. In: Veterinary Record, accepted, zuletzt geprüft am 15.03.2018.
11. Hüppler, Michael; Häfner, Florian; Geiger, Sandra; Mäder, Daniela; Hagen, Jenny (2016): Modifying the Surface of Horseshoes. Effects of Eggbar, Heartbar, Open Toe, and Wide Toe Shoes on the Phalangeal Alignment, Pressure Distribution, and the Footing Pattern. In: Journal of Equine Veterinary Science 37, S. 86–97. DOI: 10.1016/j.jevs.2015.12.009.
12. Kane, A. J.; Traub-Dargatz, J. L.; Losinger, W. C.; Garber, L. P.; Wagner, B. A.; Hill, G. W. (2000): A cross-sectional survey of lameness and laminitis in US horses. In: In Proceedings of the 9th International Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics, S. 1–3, zuletzt geprüft am 27.06.2017.
13. Lawson, Siân E. M.; Chateau, Henry; Pourcelot, Philippe; Denoix, Jean-Marie; Crevier-Denoix, Nathalie (2007): Effect of toe and heel elevation on calculated tendon strains in the horse and the influence of the proximal interphalangeal joint. In: J Anat 210 (5), S. 583–591. DOI: 10.1111/j.1469-7580.2007.00714.x.
14. Murray, Rachel C.; Walters, Juli M.; Snart, Hannah; Dyson, Sue J.; Parkin, Tim D. H. (2010): Identification of risk factors for lameness in dressage horses. In: Vet J 184 (1), S. 27–36. DOI: 10.1016/j.tvjl.2009.03.020.

15. Willemen, M. A.; Savelberg, H. H. C. M.; Barneveld, A. (1999): The effect of orthopaedic shoeing on the force exerted by the deep digital flexor tendon on the navicular bone in horses. In: *Equine Vet J* 31 (1), S. 25–30.

Kontakt

Dr. Jenny Hagen, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig
hagen@vetmed.uni-leipzig.de

Asymmetrie oder Lahmheit? Erkenntnisse durch sensorbasierte Bewegungsanalyse

Vasiliki Katrinaki

Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig, Klinik für Pferde

Seit geraumer Zeit ist Asymmetrie bzw. Lahmheit eines der herausforderndsten Themen veterinärmedizinischer Forschung. Aktuelle Forschung richtet ihren Interessenschwerpunkt in diese Richtung oder versucht zu klären, ob die Asymmetrie auf Schmerzen oder Krankheit hinweist, oder ob sie einfach nur ein natürlicher Ausdruck von Variationen zwischen Pferden ist. Ist es richtig, einen Schwellenwert an Asymmetrie festzulegen, der das Pferd als lahm einstuft, oder nicht? Wird hierdurch zukünftig die Qualifikation zum gesunden, nicht lahmen Pferd so streng, dass lediglich ‚Roboter-Pferde‘ diese erfüllen könnten? Quantitative Ganganalysesysteme tragen viel zur Untersuchung und Analyse der Bewegung des Pferdes bei und ermöglichen zuverlässige Messungen und Dokumentationen.

Lahmheit ist ein Hinweis auf eine strukturelle oder funktionelle Störung eines oder mehrerer Gliedmaßen oder des Rückens von Pferden. Diese Störungen können in Bewegung, oder aber auch während des Ruhezustands des Pferdes im Stehen, sichtbar werden. Sie kann durch Traumata, angeborene oder erworbene Anomalien, Entwicklungsstörungen, Infektionen oder Stoffwechselstörungen, Kreislauf- oder Nervenerkrankungen oder eine Kombination davon verursacht werden. Es ist wichtig, zwischen Lahmheit infolge von Schmerzen, nicht schmerzhaften Veränderungen im Gang, die oft als mechanische Lahmheit bezeichnet werden und Lahmheit aufgrund neurologischer Dysfunktionen zu unterscheiden (1).

Lahmheit ist als ein klinisches Zeichen zu betrachten, eine sichtbare Manifestation von Entzündungen, die mit Schmerzen oder einem mechanischen Defekt einhergehen können, und zu einer Anomalie der Gangart führen, die sich durch Hinken kennzeichnet. Die Definition ist einfach, aber die Erkennung, Lokalisation, Charakterisierung und das Management sind bisweilen komplex (2).

Im Laufe der vergangenen Jahre wurden zahlreiche unterschiedliche

Inertial sensor-based Systeme für die tägliche klinische Praxis entwickelt. Die Mehrheit dieser Systeme vergleicht hauptsächlich Asymmetrien zwischen der rechten und linken Hälfte des Schrittes. Hierbei wurden teilweise Parameter zur Bewertung der Lahmheit mit (3, 4) oder ohne Schwellenwerten festgelegt.

Ganganalysesysteme, wie z.B. *Inertial sensor-based* Systeme sind mit Beschleunigungssensoren, gyroskopischen und/ oder Magnetometersensoren kompatibel. Beschleunigungssensoren messen die Beschleunigung der Oberfläche, an der sie befestigt sind, gyroskopische Sensoren messen, basierend auf dem Prinzip der Drehimpulserhaltung, die Orientierung, die den Zeitpunkt und die Dauer ihrer Standphase anzeigt. Magnetometer können unter Berücksichtigung des Magnetfeldes der Erde, die Stärke und die Richtung des Magnetfeldes um sie herum bestimmen (5).

Diese Systeme überwinden das Problem der zeitlich und räumlich limitierten Auflösung des menschlichen Auges (6) und folglich die geringe Reliabilität der klassisch subjektiven Bewertung von Lahmheit (7, 8) zwischen den Beobachtern und die Beurteilung der Verbesserung von Lahmheitssymptomen nach einer Leitungsanästhesie (9).

Die Validierung und genaue Bestimmung der Präzision einiger Systeme wurde inzwischen durch Studien über videobasierte Bewegungsanalysesysteme auf Laufbändern, Treadmills (10, 11, 12) und Kraftmessplatten nachgewiesen (3).

16. Asymmetrien und Schmerzen sind häufige Anzeichen von Lahmheit. Hierbei ist zu beachten, dass einige Pferde trotz bilateraler Lahmheit einen symmetrischen Gang zeigen, und andererseits Lahmheit aus mechanischen Gründen zu großen Asymmetrien ohne das Vorhandensein von Schmerzen führen kann (13).
17. Aktuelle wissenschaftliche Arbeit hebt unter anderem die bestehenden Lücken zwischen Gangregelmäßigkeiten, Asymmetrien und Lahmheit hervor. Es wird hierbei kontrovers diskutiert, ob bestehende Schwellenwerte möglicherweise nicht die Mehrheit der Pferde repräsentieren und inwieweit Gangstörungen mit Anomalien im Bewegungsapparat des Pferdes zusammenhängen (14, 15). Beim Menschen wird chronischer Schmerz als eine komplexe, sensorische und emotionale Erfahrung verstanden, die je nach Kontext und Bedeutung des Schmerzes, sowie dem psychischen Zustand des Patienten individuell unterschiedlich zu bewerten ist (16). Chronifizierung kann sowohl die Schmerzverarbeitung modifizieren als auch die Schmerzquellen verändert und diese weniger leicht identifizierbar gemacht haben (16).
18. Die klassische Methode, Lahmheit zu erkennen und den muskulo-tendinösen Apparat des Pferdes zu untersuchen, bestand in der visuellen Untersuchung des Gangs unter verschiedenen Bedingungen. Hierbei wurden das Vorhandensein oder Fehlen und der Grad der Asymmetrie als wichtige Kriterien herangezogen. Wie oben beschrieben, sind der subjektiven Bewertung der Bewegung des Pferdes jedoch bekannte, menschliche Grenzen gesetzt.

Sensorbasierte Analysesysteme haben Asymmetrien beim Gang auf gerader Linie, beim Longieren (17, 18, 19) und beim Reiten des Pferdes (20) dokumentiert, die alle nicht mit Lahmheit zusammenhängen. Klinisch und experimentell konnte gezeigt werden, dass messbare Bewegungsasymmetrien erfolgreich auf diagnostische Anästhesie ansprechen. Eine *Lahmheit der Vorderbeine kann zu einer signifikanten Veränderung der Symmetrie der Beckenbewegung führen, die wiederum mit der Bewegung des kontralateralen Hinterbeines in Verbindung steht und somit Auswirkungen auf die Lahmheit mehrerer Gliedmaßen haben kann* (21, 22, 23).

In vielen Studien wurde eine primäre Lahmheit der Vorderbeine und hiermit assoziierte, sowohl kontralaterale als auch ipsilaterale Veränderungen der Bewegung der Hinterbeine festgestellt. Für das Auftreten von kontra- oder ipsilateralen Veränderungen der Hinterbeinbewegungen scheint die Art der Lahmheit (impact oder push off) entscheidend zu sein (21, 24, 25, 26). Dennoch ist darauf zu achten, dass es ebenso Hinweise auf Lahmheit mehrerer Gliedmaßen als Folge zweier primärer Hauptschmerzquellen gibt. Die dargestellten Ergebnisse sollten somit nicht als kompensatorisch missgedeutet werden.

Die Bewertungen der geradlinigen Bewegung auf einer harten, ebenen Oberfläche sind keine so große Herausforderung wie die Bewertung während des Longierens eines Pferdes. Durch das Longieren können Asymmetrien in der vertikalen Kopf- und Beckenbewegung (27) induziert werden, die oberflächenabhängig (13, 19, 28) auftreten. Da es während des Longierens ohnehin zu natürlich auftretenden asymmetrischen Bewegungsmustern kommen kann, verzichten zahlreiche Kliniker auf die Begutachtung der Asymmetrie beim Longieren.

Pferde mit einer leichten Lahmheit werden häufig beim Reiten untersucht. Es wird angenommen, dass Reiter die normalen symmetrischen Bewegungen eines Pferdes stören können. Das Reiten im Trab verursacht hierbei die geringste Beeinträchtigung, aber das Posten im Trab verursacht Asymmetrien am kontralateralen Hinterbein (20).

Die Sensorbasierte Bewegungsanalyse ist ein hilfreiches Werkzeug zur Ganganalyse. Im Laufe der Jahre konnten Asymmetrien als Ausdruck der Kompensation verschiedener Bedingungen

festgestellt werden. Diese Asymmetrien sollten bei der Untersuchung des muskulo-tendinösen Apparats berücksichtigt werden. Natürlich gibt es Patienten mit Problemen mehrerer Gliedmaßen. Die sensorbasierten Bewegungsanalyse-Systeme können diese Asymmetrien reliabel messen und Kompensationsmuster identifizieren. Sie verfügen ebenfalls über die Fähigkeit zu unterscheiden, in welcher Schrittphase eine Asymmetrie auftritt und ob dieses Bewegungsmuster eine Kompensationsbewegung darstellt oder auf eine der Hauptursachen für Lahmheit zurückzuführen ist.

Asymmetrie oder Lahmheit ist eines der heißen Eisen veterinärmedizinischer Forschung. Eine solche Forschung scheint sowohl notwendig als auch durch moderne Technologie umsetzbar zu sein. Hierbei kann die beschriebene fortschrittliche Technologie genutzt werden, um schrittweise die Grauzonen zwischen den nicht schmerzhaften und den schmerzhaften bzw. auf Lahmheit zurückzuführenden, asymmetrischen Bewegungsmustern, aufzulösen.

Literatur

1. Baxter GM. Adams and Stashak's Lameness in Horses, 6th Edition. A John Wiley & Sons; 2011. 2262 p.
2. Michael W Ross DVM DACVS Author SJDMVPDFA. Diagnosis and Management of Lameness in the Horse -2nd Edition. 2016 Nov 24;:1-1504.
3. Keegan KG, KEE. Comparison of a body-mounted inertial sensor system-based method with subjective evaluation for detection of lameness in horses. *Am J Vet Res.* 2013 Jan;74(1):1-8.
4. Back W, Clayton H, editors. *Equine Locomotion*, 2nd Edition. second. 2013. 527 p.
5. Näsänen R, Ojanpää H, Tanskanen T, Päälysaaho J. Estimation of temporal resolution of object identification in human vision. *Exp Brain Res.* Springer-Verlag; 2006 Jul;172(4):page 51.
6. Keegan KG, Wilson DA, Wilson DJ, Smith B, Gaughan EM, PLEASANT RS, et al. Evaluation of mild lameness in horses trotting on a treadmill by clinicians and interns or residents and correlation of their assessments with kinematic gait analysis. *Am J Vet Res.* 1998 Nov;59(11):1370-1377.
7. Keegan KG, Dent EV, Wilson DA, Janicek J, Kramer J, LaCarrubba A, et al. Repeatability of subjective evaluation of lameness in horses. *Equine Vet J.* Blackwell Publishing Ltd; 2010 Mar;42(2):92-97.
8. Arkell M, Archer RM, Guitian FJ, May SA. Evidence of bias affecting the interpretation of the results of local anaesthetic nerve blocks when assessing lameness in horses. *Vet Rec. British Medical Journal Publishing Group;* 2006 Sep 9;159(11):346-349.
9. Keegan KG, Yonezawa Y, Pai PF, Wilson DA, Kramer J. Evaluation of a sensor-based system of motion analysis for detection and quantification of forelimb and hind limb lameness in horses. *Am J Vet Res.* 2004 May;65(5):665-670.
10. Keegan KG, Kramer J, Yonezawa Y, Maki H, Pai PF, Dent EV, et al. Assessment of agreement among diplomates of the American College of Veterinary Anesthesia and Analgesia for scoring the recovery of horses from anesthesia by use of subjective grading scales and development of a system for evaluation of the recovery of horses from anesthesia by use of accelerometry. <http://dxdoiorg/102460/ajvr7291156>. American Veterinary Medical Association 1931 North Meacham Road, Suite 100, Schaumburg, IL 60173-4360 USA 847-925-8070 847-925-1329 avmajournals@avma.org; 2011 Sep 1;72(9):1156-1163.
11. Donnell JR, Frisbie DD, King MR, Goodrich LR, Haussler KK. Comparison of subjective lameness evaluation, force platforms and an inertial-sensor system to identify mild lameness in an equine osteoarthritis model. *The Veterinary Journal.* 2015 Nov;206(2):136-142.
12. Keegan KG, MacAllister CG, Wilson DA, Gedon CA, Kramer J, Yonezawa Y, et al. Comparison of an inertial sensor system with a stationary force plate for evaluation of horses with bilateral forelimb lameness. <http://dxdoiorg/102460/ajvr733368>. American Veterinary Medical Association 1931 North Meacham Road, Suite 100, Schaumburg, IL 60173-4360 USA 847-925-8070 847-925-1329 avmajournals@avma.org; 2012 Feb 27;73(3):368-374.
13. *Equine Sports Medicine and Surgery*, 2nd Edition. 2017 Jan 13;:1-1262, 232, capital 12:page 232.
14. van Weeren PR, Pfau T, Rhodin M, Roepstorff L, Bragança FS, Weishaupt MA. Do we have to redefine lameness in the era of quantitative gait analysis? *Equine Vet J.* 5 ed. American Medical Association (AMA); 2017 Sep 1;49(5):567-9.

15. Rhodin M, Egenvall A, Haubro Andersen P, Pfau T. Head and pelvic movement asymmetries at trot in riding horses in training and perceived as free from lameness by the owner. *Loor JJ, editor. PLoS ONE.* 2017;12(4):e0176253.
16. Crofford LJ. Chronic Pain: Where the Body Meets the Brain. *Transactions of the American Clinical and Climatological Association. American Clinical and Climatological Association;* 2015;126:167-183.
17. Rhodin M, Pfau T, Roepstorff L, Egenvall A. Effect of lungeing on head and pelvic movement asymmetry in horses with induced lameness. *Vet J.* 2013 Dec;198 Suppl 1:e39-45.
18. Rhodin M, Roepstorff L, French A, Keegan KG, Pfau T, Egenvall A. Head and pelvic movement asymmetry during lungeing in horses with symmetrical movement on the straight. *Equine Vet J.* 6 ed. 2015 May 29;48(3):315-320.
19. Starke SD, Willems E, May SA, Pfau T. Vertical head and trunk movement adaptations of sound horses trotting in a circle on a hard surface. *Vet J.* 2012 Jul;193(1):73-80.
20. Equinosis, LLC, Keegan KG. Using the Q to evaluate lameness under saddle. 2018 Feb 14;:1-3.
21. Maliye S, Voute L, Lund D, Marshall JF. An inertial sensor-based system can objectively assess diagnostic anaesthesia of the equine foot. *Equine Vet J Suppl.* 2013 Dec;45(45):26-30.
22. Maliye S. Maliye, Sylvia (2015) Clinical objective assessment of diagnostic anaesthesia and investigation of compensatory lameness in the horse. MVM(R) thesis <http://theses.gla.ac.uk/6430/> Copyright and moral rights for this thesis are retained by the author A copy can be downloaded for personal non-commercial research or study, without prior permission or charge This thesis cannot be reproduced or quoted extensively from without first obtaining permission in writing from the Author The content must not be changed in any way or sold commercially in any format or medium without the formal permission of the Author When referring to this work, full bibliographic details including the author, title, awarding institution and date of the thesis must be given. 2015 Jun 3;:1-85.
23. Maliye S, Marshall JF. Objective assessment of the compensatory effect of clinical hind limb lameness in horses: 37 cases (2011-2014). *J Am Vet Med Assoc.* 2016 Oct 15;249(8):940-944.
24. Uhlir C, Licka T, Küber P, Peham C, SCHEIDL M, Girtler D. Compensatory movements of horses with a stance phase lameness. *Equine Vet J Suppl.* 1997 May;(23):102-105.
25. Kelmer G, Keegan KG, Kramer J, Wilson DA, Pai FP, Singh P. Computer-assisted kinematic evaluation of induced compensatory movements resembling lameness in horses trotting on a treadmill. *Am J Vet Res.* 2005 Apr;66(4):646-655.
26. Weishaupt MA, Wiestner T, Hogg HP, Jordan P, Auer JA. Compensatory load redistribution of horses with induced weight-bearing forelimb lameness trotting on a treadmill. *The Veterinary Journal.* 2006 Jan;171(1):135-146.
27. Rhodin M, Roepstorff L, French A, Keegan KG, Pfau T, Egenvall A. Head and pelvic movement asymmetry during lungeing in horses with symmetrical movement on the straight. *Equine Vet J.* 2016 May 1;48(3):315-320.
28. Pfau T, Jennings C, Mitchell H, Olsen E, Walker A, Egenvall A, et al. Lungeing on hard and soft surfaces: Movement symmetry of trotting horses considered sound by their owners. *Equine Vet J. American Medical Association (AMA);* 2014 Dec 18;48(1):83-89.

Kontakt

Vasiliki Katrinaki, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig, Klinik für Pferde
 vasiliki.katrinaki@vetmed.uni-leipzig.de

"Lahmheiten" ausgehend von Störungen im oberen Bewegungsapparat

Nadine Blum

Tierklinik Lüsche GmbH

Einleitung

Muskuloskelettale Pathologien sind häufige, leistungsbeeinträchtigende Probleme bei Sportpferden und Pferdepraktiker in der Lahmheitsdiagnostik geübt. Häufig besteht dennoch lückenhaftes Wissen über axiale biomechanische Dysfunktionen als prädisponierende Faktoren.

Muskuloskelettale Strukturen sind unter Voraussetzung adäquater Zeit und Stimuli in der Lage, sich an mechanische Anforderungen anzupassen. Dysfunktionen und Strukturdefekte entstehen infolge von Belastungen, die die mechanische Kapazität der Gewebe übersteigen oder aufgrund chronischer Gewebsermüdung durch repetitive Mikrotraumata.

Dysfunktionelle biomechanische Gangbildabberationen können sich zu klinischen Lahmheiten entwickeln und das fundierte Verständnis der funktionellen Anatomie und segmentalen Biomechanik ist essentiell, um biomechanischen Stress zu identifizieren. Ziel dieses Beitrages ist es, die funktionelle Anatomie, Biomechanik und Energieeffizienz des axialen Bewegungsapparates im Hinblick auf die Entstehung von Gangbildveränderungen und Lahmheiten zu beleuchten.

Energieeffizienz des equinen Bewegungsapparates

Der Bewegungsapparat des Pferdes besitzt die Fähigkeit, schnelle Sprintbewegungen mit langanhaltenden Ausdauerbewegungen zu kombinieren (1). Für Fluchttiere ist es vonnöten, den Energieaufwand des Bewegungsablaufs zu optimieren, und die equine Evolution hat einzigartige biomechanische Energieeffizienzmechanismen hervorgebracht. Das Zusammenspiel muskuloskelettaler Strukturen ermöglicht als Stehapparat die Fixation der Gliedmaßen in Extension und ein aufrechtes Stehen oder gar Schlafen mit minimalem Muskelaufwand ist gewährleistet, ohne die anhaltende Fluchtbereitschaft einzubüßen. Herbivoren müssen in der Lage sein, das beträchtliche Gewicht der Verdauungsorgane über Distanzen zu tragen. Aus biomechanischer Sicht verfügen Pferde über äußerst effektive Energieeffizienz- wie Stoßdämpfungsmechanismen (2), um eine ökonomische Fortbewegung zu ermöglichen. Die Bewegungen der Gliedmaßen, des Beckens sowie der Wirbelsäule sind hierzu synchronisiert (3).

In der Schwingphase bewegen sich die Gliedmaßen in energieeffizienter Pendelbewegung um den Körper, während sie in der Fußungsphase durch federartige Einklemmung zwischen dem Körpergewicht und den Bodenreaktionskräften mit potentieller Energie geladen werden. Durch Spannung und Dehnung titin- und kollagenhaltiger Gewebsanteile kommt es zur Anstauung potentieller Energie (2) in den elastischen Gewebsstrukturen. Ähnlich einer Sprungfeder (4) kann diese Energie annähernd verlustlos freigesetzt und in eine Vorwärtsbewegung umgewandelt werden.

Gleiches geschieht in den elastischen Elementen der spinalen und paraspinalen Gewebsstrukturen. Die rhythmische Flexion und Extension des Rückens mittels antagonistischer Kontraktion der epaxialen und hypaxialen Muskulatur führt zur Retention potentieller Energie (4). Durch passives, sinusartiges Rückschwingen der Wirbelsäule wird Bewegungsenergie freigesetzt.

Segmentale Biomechanik und funktionelle Anatomie

Die Wirbelsäule des Pferdes befindet sich zugfederartig unter dem Becken aufgehängt, und die Iliosakralgelenke (ISGs) sind zu keiner Zeit des Bewegungsablaufs einer vollen Gewichtsbelastung ausgesetzt (5). Ungleich anderen Gelenken erfährt der Gelenkknorpel kaum orthogonal einwirkende

Kompressionskräfte, sondern primär Zug- und Scherkräfte durch Gleitbewegungen (6). Dies spiegelt sich in der Gelenkmorphologie der Kreuzdarmbeingelenke wider. Sie können mit einer Kardanwelle verglichen werden, in welcher straffe ligamentöse Verbindungen von Kreuzbein und Becken die Kraftübertragung der Hinterhand auf die Wirbelsäule ermöglichen.

Dennoch werden die ISGs häufig als Ursache muskuloskelettaler Leistungseinschränkungen und rückenassoziierter Schmerzen diagnostiziert (7). Knöcherne Veränderungen (8), wie auch degenerative Knorpeldefekte (6) werden regelmäßig an Sektionspräparaten nachgewiesen und unterstreichen die Bedeutung dieser Gelenke als biomechanische Kraftzentren.

Aufgrund des geringen Bewegungsspielraums sowie der eingeschränkten Zugänglichkeit der ISGs erfordert die Untersuchung fortgeschrittenes Palpationsgeschick und Erfahrung (9). Die Bewegung in sagittaler Ebene wird als Flexion und Extension ('pelvic pitch') bezeichnet und mit einem Bewegungsausmaß von 1° um eine Transversalachse durch die caudomedialen Aspekte beider ISGs angegeben (10). Die axiale Rotation des Beckens erfolgt um eine longitudinale Achse durch das Sakrum ('pelvic roll'), eine Seitbewegung um eine vertikale Achse durch die Sakrumbasis ('pelvic jaw'). Beide werden mit ca. 2,5° (7,11) bzw. Gelenkverschiebungen von 3-10mm (7) angegeben.

Durch Einwirkung der Hinterhandkräfte auf die ISGs ist das Gelenkspiel in Bewegung größer als am stehenden Pferd (12); im Trab hingegen durch muskuläre Stabilisierung (2) aufgrund vermehrt aktivierter neuromotorischer Kontrolle gegenüber dem Schritt reduziert. Dabei ist der *Musculus iliopsoas* von besonderem Interesse. Aufgrund seiner Lokalisation ventral der letzten Brust- sowie der Lendenwirbel und der Insertion am Becken (13) spielt er eine herausragende Rolle bei der Beugung wie Stabilisierung der ISGs und des lumbosakralen Übergangs (7).

Neben den Ilio- und Lumbosakralgelenken kommt dem Becken eine wichtige Rolle in der Kraftübertragung und Stoßdämpfung der Hinterhandkräfte zu. Trotz alterungsbedingter, langsam fortschreitender Ossifikation bleibt die Beckensymphyse lebenslang partiell flexibel. Die knöcherne Fusion der Beckenknochen findet beim Pferd meist im Alter von 10-12 Monaten statt (14). Dennoch verbleibt den Beckenhälften die Kapazität zur dynamischen Deformation, so dass das Becken partielle Biegefähigkeit behält und mitnichten als rigide Struktur betrachtet werden kann (15).

Dysfunktion und Lahmheit

Der muskuloskelettale Apparat des Pferdes verfügt über eine hohe Anpassungskapazität an mechanische Anforderungen. Dennoch können Veränderungen interner Kraftvektoren zu repetitiven Mikroläsionen und zur Beeinträchtigung der funktionellen und strukturellen Integrität und der Energieeffizienz des Körpers führen. Veränderung der biomechanischen Funktion einer Struktur führt unweigerlich zu biomechanischer Adaptation und Auswirkungen auf andere Gewebsstrukturen. Biomechanische Dysfunktionen der axialen Skelettanteile können entsprechend prädisponierende Faktoren klinisch relevanter Lahmheiten sein, werden jedoch weiterhin als potentielle Ursache von Leistungsminderung und Schmerz unterschätzt (5).

Biomechanische Konzepte wie das 'Bogen-Sehnen-Modell' des Pferderückens versuchen die hochkomplexen biomechanischen Eigenschaften der Wirbelsäule zu erklären (16). Bisher werden jedoch weder die biomechanische Komplexität noch die Interaktionen zwischen Wirbelsäule, Becken und Gliedmaßen in Gänze abgebildet (7).

Länger bestehende Lahmheiten können aufgrund asymmetrischer Muskel-, Band- oder Knochenbelastung sichtbare Beckenasymmetrien auslösen (7). Induzierte Längenveränderungen der Hintergliedmaßen führen nachweislich zu vertikalen Verschiebungsasymmetrien des Beckens (17). Funktionelle und strukturelle Asymmetrien des Beckens sind häufig zu erhebende Merkmale (7), die auch bei klinisch unauffälligen Pferden zu beobachten sind (10).

Jedoch werden axiale Asymmetrien auch mit Gangbildabberationen in Verbindung gebracht (18). Dies gilt im Besonderen für die Iliosakral-, sowie Lumbosakralgelenke (2), die trotz ihres geringen

physiologischen Bewegungsspielraums für den ungestörten Bewegungsablauf des Pferdes von besonderer Bedeutung sind (19). Axiale Asymmetrien führen, wie beim Menschen, zu einer funktionell langen sowie einer funktionell kurzen Gliedmaße. Auf Seiten der funktionell langen Extremität kann eine vermehrte Aufwärtsbewegung, auf Seiten der funktionell kurzen Extremität eine vermehrte Abwärtsbewegung des Beckens nachgewiesen werden (17). Aus der Asymmetrie resultierende, veränderte Bodenreaktionskräfte mit verstärkten Abfußungskräften auf dem funktionell langen Bein sowie vermehrter Gewichtsbelastung auf dem funktionell kurzen Bein können durch repetitive Fehlbelastung zu einer klinischen Relevanz führen.

Aus biomechanischer Sicht ist eine optimierte, segmentale, neuromuskuläre Gelenkstabilisierung essentiell, um die physische Integrität des Körpers zu erhalten. Studien an Hunden konnten dies eindeutig belegen (20) und die an den Gelenkflächen auftretenden Scherkräfte (21) scheinen unter optimaler Stabilisierung geringer als bei aufeinander schmelzenden Eiswürfeln (22) – die Gelenke 'fließen im Weichteilgewebe'. Die Kapazität der muskulären Stabilisierung zeigt sich in der hohen Inzidenz pathologischer Gelenkbefunde ohne Lahmheitshistorie. In der humanen Sportmedizin wird diese Erkenntnis längst als 'state of the art' im Management orthopädischer Erkrankungen angesehen. Rehabilitationsmaßnahmen umfassen routinemäßig gezielten Muskelaufbau und propriozeptives Training und sollten auch in der Pferdemedizin in den Vordergrund rücken.

Um die physische Integrität unter reiterlicher Belastung auf lange Sicht zu erhalten, müssen Pferde in der Lage sein, ihre Gliedmaßen in optimierter Gewichtsbelastung nahe des Gravizentrums zu zentrieren und den Rücken gegen das Reitergewicht aufzuwölben. Eine uneingeschränkte und korrekte Funktionalität der Gliedmaßen-, Becken- und Rückensegmente ist daher unerlässlich, um das Tier vor biomechanischer Dysfunktion und Schäden zu bewahren; vor allem wenn die Leistungsansprüche an das Sportpferd besondere biomechanische Anpassungen erfordern (23).

Ein fundiertes Wissen der biomechanischen Gelenks- und Gewebeeigenschaften ermöglicht dem Pferdepraktiker ein verbessertes Verständnis der Ätiologie sowie der Therapie lahmheitsbedingter Leistungsminderungen.

Literatur

1. König HE, Liebich HG. Anatomie der Haussäugetiere: Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis. 4. Auflage. Schattauer Verlag; 2008.
2. McGowan C, Goff L, McGowan T et al. Studies of the Movement of the Equine Pelvis - Sacroiliac kinematics. © 2010 Rural Industries Research and Development Corporation; 2010.
3. Hermanson JW, MacFadden MJ. Evolutionary and Functional Morphology of the Knee in Fossil and Extant Horses (Equidae). J Vertebr Paleontol. 1996;16(2):349–57.
4. Ziermann S. Energiesparmechanismen und Stoßdämpferfunktionen am Bewegungsapparat des Pferdes Eine Literaturrecherche. Ludwig-Maximilians-Universität München; 2006.
5. Clayton HM. Biomechanics of the exercising horse. J Anim Sci. 2016;94(10):4076–86.
6. Goff LM, Jeffcott LB, Jasiewicz J, McGowan CM. Structural and biomechanical aspects of equine sacroiliac joint function and their relationship to clinical disease. Vet J. 2008;176(3):281–93.
7. Kowalczyk L. Das Iliosakralgelenk des Pferdes: Morphologische und klinische Studie. Ludwig-Maximilians-Universität München; 2008.
8. Goff L, Jeffcott C, Riggs C et al. Sacroiliac joint morphology: influence of age, bodyweight and previous back pain. Scientific Abstracts ICEEP 2014. Equine Vet J. 2014;46(Suppl.46):2–55.
9. Peters DF. Focus Meeting Focus on Hindlimb Lameness. In: Proceedings AAEP. 2012.
10. Haussler K K. Biomechanics and pathology of the equine back and pelvis: Proceedings ACVS 2013. In: Proceedings ACVS. 2013. p. 180–3.
11. Goff L, VanWeeren R, Jeffcott L et al. Measurement of motion during manipulation of the equine pelvis. Scientific Abstracts ICEEP 2014. Equine Vet J. 2014;46(Suppl.46):2–55.

12. Wentink GH. Biokinetical analysis of the movements of the pelvic limb of the horse and the role of the muscles in the walk and the trot. Vol. 152, *Anatomy and Embryology*. 1978. p. 261–72.
13. Stubbs N, Hodges PW, Jeffcott LB et al. Functional anatomy of the thoracolumbar and lumbosacral spine. *Equine Vet J Suppl.* 2006;36(August):393–9.
14. Baxter G, editor. *Adam's and Stashak's Lameness in Horses*. Vol. 91. Elsevier Saunders; 2017. 399–404 p.
15. Haussler KK, McGilvray KC, Ayturk UM, Puttlitz CM, Hill AE, McIlwraith CW. Deformation of the equine pelvis in response to in vitro 3D sacroiliac joint loading. *Equine Vet J.* 2009;41(3):207–12.
16. Rhodin M. A Biomechanical Analysis of Relationship Between the Head and Neck Position, Vertebral Column and Limbs in the Horse at Walk and Trot. *Animal Science*. 2008.
17. Vertz J, Deblanc D, Rhodin M et al. Effect of a unilateral hind limb orthotic lift on upper body movement symmetry in the trotting horse. Munderloh UG, editor. *PLoS One*. 2018 Jun 21;13(6):1–14.
18. Pfau T, Parkes RS, Burden ER, Bell N, Fairhurst H, Witte TH. Movement asymmetry in working polo horses. *Equine Vet J.* 2016 Jul 1;48(4):517–22.
19. Van Weeren P. Biomechanics of the pelvis. In: *Proceedings 51st BEVA Congress*. 2013. p. 14–5.
20. Wachs K, Fischer MS, Schilling N. Three-dimensional movements of the pelvis and the lumbar intervertebral joints in walking and trotting dogs. *Vet J.* 2016 Apr 1;210:46–55.
21. Jahn S, Seror J, Klein J. Lubrication of Articular Cartilage. *Annu Rev Biomed Eng.* 2016;18(July):235–58.
22. Voikovskii KF. The Mechanical Properties of Ice. 1960. 1–92 p.
23. Rhodin M, Byström A, Roepstorff L et al. Effect of different head and neck positions on kinematics of elite dressage horses ridden at walk on treadmill. *Comp Exerc Physiol.* 2018;14(2):69–78.

Kontakt

Dr. Nadine Blum, Tierklinik Lüsche GmbH, Bakum-Lüsche, Germany
nblum@tierklinik-luesche.de

Natürliche Bewegungsasymmetrien - Ursache und Manifestation in Gliedmaßenführen, Rückenlinie und Kopf-/Beckenbewegung

Jenny Hagen

Veterinär-Anatomisches Institut und Klinik für Pferde, Hufbeschlagschule, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig

Dynamische Beurteilung des Pferdes durch sensor-basierte Bewegungsanalysen

In den letzten Jahren haben sich zunehmend sensorbasierte Bewegungsanalysesysteme auf dem Markt etabliert, die zur Lahmheitsdiagnostik und teilweise zur Beurteilung des Gangbildes eingesetzt werden.

Da die Beurteilung des Pferdes in Bewegung sehr komplex ist und innerhalb weniger Sekunden zahlreiche Kriterien, wie Symmetrie der vertikalen Kopf- und Beckenbewegung, Absinken des Fesselkopfes, Takt, Gliedmaßenführung und Fußungsmuster erfasst werden müssen, ist die Bewegungsbeurteilung fehleranfällig (1, 2). Die dynamische Untersuchung des Pferdes ist durch den Fakt limitiert, dass das menschliche Auge lediglich mit einer Frequenz von 15-24 Bilder/Sekunde (Hz) sehen kann und damit schnelle Abläufe, wie Auf- und Abfußen oder Kopfbewegung schwer zu erfassen sind (2). Die meisten Sensoren messen mit einer höheren zeitlichen (100 bis 1000 Hz) und räumlichen Auflösung als das menschliche Auge (3, 4).

Eines der am weitesten verbreiteten Systeme zur Lahmheitsdiagnostik stellt derzeit der Lameness Locator® dar. Die objektive Beurteilung von Lokalisation und Grad einer Lahmheit erfolgt über Symmetriebestimmungen der Kopf- und Beckenbewegungen (5, 6, 7). Der Vergleich der Zuverlässigkeit von Lahmheitsbefunden zwischen System und Tierärzten zeigen, dass das System in 58,3% die betroffene Gliedmaße schneller identifiziert. Als Interpretationshilfe der gewonnenen Daten wird direkt angegeben welche Gliedmaße zu welchem Grad eine Lahmheit aufweist und um wieviel Prozent sich die Lahmheit nach einer Leitungsanästhesie gebessert hat. Die Interpretation der Werte durch das System basiert auf einer langjährigen und fundierten Erhebung von Referenzdaten an mehreren tausend Pferden und kann als zuverlässig angesehen werden. Vorderhandlahmheiten werden ab Asymmetrie der vertikalen Kopfbewegung zwischen der linken und rechten Stützbeinphase von > 6 mm definiert. Eine Hinterhandlahmheit wird angegeben, wenn die Asymmetrie der vertikalen Beckenbewegung > 3 mm beträgt (1).

Die Sensoren sind so sensitiv, dass kleinste Asymmetrien erfasst werden. In einer Untersuchung in Zusammenarbeit mit der Klinik für Pferde der Universität Gießen (Prof. Röcken, PD Dr. Geburek und TÄ Hoffmann), bei der aus einer Population vermeintlich gesunder und in Nutzung befindlicher Pferde lahmfreie Tiere für weitere Untersuchungen selektiert werden sollten, waren von 50 mit dem Lameness Locator® untersuchten Pferde lediglich 10 nach den Kriterien des Messsystems tatsächlich lahmfrei. Die Frage ist, ob bei allen anderen Pferden eine schmerzbedingte Lahmheit vorlag?

Ursachen „natürlicher Schiefe“

Es ist weitestgehend akzeptiert, dass auch Pferde eine gewisse „Händigkeit“ bzw. „natürliche Schiefe“ besitzen (8, 9, 10, 11). Dies äußert sich in einer gewissen Asymmetrie in den Strukturen des Bewegungsapparates und in Bewegungsabläufen. Verschiedene Ursachen werden diskutiert, die zu diesen anatomischen oder funktionellen Asymmetrien führen (12). Diese können wie folgt zusammengefasst werden:

1. Zerebrale bzw. neurologische Ursachen

- Bewegungsabläufe werden zu großen Teilen zentralnervös gesteuert. Die Erregungswahrnehmung (Propriozeption), die Pfade der Erregungsleitung (Faserqualität, synaptische Verschaltung, Schaltkreise im Rückenmark) und deren Interpretation (Struktur des motorischen Kortex, Zerebellum) passen sich funktionell den Anforderungen an den Organismus an (13). Diese neurologischen Adaptationsmechanismen werden unter dem Begriff „Neuroplastizität“ zusammengefasst (14). Insbesondere im Erlernen neuer motorischer Bewegungsmuster spielt dieser Mechanismus eine gewollte, aber zum Teil auch ungewollte Rolle. Schmerzbedingte Schonhaltungen, einseitige Nutzung des Pferdes oder haltungsbedingte Bewegungsabläufe manifestieren sich unter Umständen in den neuromuskulären Schaltkreisen und können auch nach Abklingen der Schmerzen oder Änderung der Haltungs- bzw. Nutzungsbedingungen ein asymmetrisches Bewegungsmuster bedingen. Es kann auch davon ausgegangen werden, dass wie beim Menschen, eine „Händigkeit“ zentralnervös festgelegt ist (12).

2. Anatomisch-funktionelle Ursachen

- Die Gewebe des Bewegungsapparates unterliegen ständig, dynamischen Anpassungsvorgängen (15). So werden beim Fohlen im ersten Lebensjahr 10% des Knochengewebes einmal ausgetauscht, um sich an bestehende Belastungsverhältnisse schnellstmöglich anzupassen. Dieser sogenannte Knochenumbau („Bone Remodelling“) besteht auch noch im Erwachsenenalter, so dass auch beim adulten Pferd noch 10% der Knochensubstanz pro Jahr umgebaut werden (15). Es wurde festgestellt, dass an den Hufbeinen ausgewachsener Pferde, in Abhängigkeit von der Stellung der Zehe, Knochenschwund in bestimmten Regionen des Hufbeins erkennbar ist. Bei steilen Hufen war ein Knochenverlust an der Hufbeinspitze erkennbar, während bei sehr flach gewinkelten Hufen an den Hufbeinästen Knochenabbau zu sehen war. Bei einseitig stärker belasteten Hufen zeigte sich auch eine morphologische Asymmetrie an den Hufbeinen, mit ungleich großen bzw. ungleich gewinkelten Hufbeinhälften. (16, 17) Von einem asymmetrischen Hufbein wiederum kann keine symmetrische Hufkapsel ausgehen. Zudem wurde gezeigt, dass auch das Fesselbein adulter Pferde asymmetrisch geformt ist. In eigenen Studien wurde nachgewiesen, dass bei $n = 75$ Pferden das rechte Fesselgelenk stärker gestreckt ist als das linke und auch die rechte Gliedmaße insgesamt etwas stärker belastet wird als die Linke (18, 19). Auch Sehnen und Bänder haben einen gewissen Gewebeumsatz, der eine Anpassung an bestehende Belastungsverhältnisse ermöglicht (20, 21). Da es kaum möglich ist, dass ein Pferd während seiner Entwicklung und Nutzung absolut symmetrisch belastet wird, ist es wahrscheinlich, dass sich auch der Bewegungsapparat leicht asymmetrisch anpasst.

3. Ontogenetische Ursachen

- Es wird zudem diskutiert, dass die Entwicklung des Fohlens im Uterus bereits zur Entstehung einer „natürlichen Schiefe“ beiträgt. Dass ab einer gewissen Größe das Fohlen im Mutterleib zu einer Seite gebogen liegen muss, könnte dazu beitragen, dass eine Lateralität vorgegeben wird (22). Dieser Punkt wird allerdings kontrovers beschrieben.

4. Ursachen Ausgehend von Körperbau und Körperhaltung

- Es wurde in Untersuchungen gezeigt, dass Fohlen mit kurzem Hals und langen Beinen verstärkt zur Entwicklung ungleicher Hufe bzw. Zehen tendieren, da sie bevorzugt eine Gliedmaße zum Graseschritt nach vorne stellen (23). Kurzes Gras kann diesen Effekt verstärken. Die mehr belasteten Hufe waren flacher gewinkelt als die der nach vorne

gestellten Gliedmaßen (24). Auch das Bestehen leichter Gliedmaßenfehlstellungen im Jungpferdealer bedingt die Entwicklung leicht schiefer und ungleichmäßig gewinkelter Hufe. Sehnen, Bänder und Muskulatur passen sich entsprechend den asymmetrischen Belastungen an. Van Heel et al. (2010) fanden daraus resultierend bei 24% der dreijährigen Pferde eine signifikante Schiefe im Bewegungsablauf (11).

5. Nutzung des Pferdes und reiterlicher Einfluss (12)

- Auch das präferierte Führen und Aufsteigen beim Reiten wird als Faktor zur Entwicklung einer gewissen anatomischen und funktionellen Schiefe gewertet. Die Pferd-Reiter-Interaktion spielt in diesem Zusammenhang ebenfalls eine Rolle. Viele Menschen besitzen ebenfalls eine „starke“ Seite und sind eher Links- oder Rechtshänder. Demnach werden zumeist auch Reiterhilfen seitenbedingt mit unterschiedlicher Intensität gegeben und können als Verstärker der Lateralität beim Pferd wirken.

Ausprägung in Gliedmaßenführung, Rückenlinie und Kopf-/Beckenbewegung

Eine „natürliche Schiefe“ manifestiert sich wie beschrieben im Erscheinungsbild der Strukturen des Bewegungsapparats und in funktionellen Abläufen, wie dem Bewegungsmuster. Neben ungleichmäßigen Hufen bzw. Zehenwinkelungen und Gliedmaßenstellungen, spiegelt sich eine Asymmetrie auch in einer schiefen Rückenlinie, asymmetrischen Kopf-Hals-Haltung oder einer Schweifschiefstellung wieder (9). Grundsätzlich gilt ein reiterloses Pferd als relativ gut balanciert, trotz seiner Schiefe, mit der es umzugehen gelernt hat (12). Funktionell, beim Reiten bedeutet eine „natürliche Schiefe“ jedoch meistens, dass sich das Pferd besser zu einer Seite biegen lässt (12), beim Galopp oder Sprung eine Gliedmaße bevorzugt als führendes Bein nach vorne zum Landen nutzt (8) oder auf Zügelhilfen im Seitenvergleich unterschiedlich reagiert. Greve und Dyson et al. (2016) zeigten, dass bei gesunden Pferden Rechts-Links-Asymmetrien in der dorsoventralen Bewegung der Hüfthöcker um bis zu 1,8 cm gemessen werden konnten. In neueren Untersuchungen von Rehren (2018) wurde zudem folgende Aussagen bei der Untersuchung von n = 14 gesunden Pferden getroffen:

- 12 der 14 Pferde zeigen in Schritt oder Trab eine seitliche Abstellung der Hinterhand
- In Schritt und Trab zeigen die Pferde häufig individuelle Asymmetrien in der Vor- und Rückführung der Vorder- und Hintergliedmaßen
- 8 der 14 Probanden zeigten eine signifikante Bevorzugung beim Vorstellen eines Vorderbeins im Weideschritt
- 12 dieser 13 Probanden hatten eine bevorzugte Ausweichrichtung vor Hindernissen
- Geringgradige Belastungsasymmetrien der Gliedmaßen gesunder Pferde in Schritt und Trab waren die Regel und sind zwischen den verschiedenen Pferden extrem variabel
- Der Schritt scheint häufiger symmetrisch zu sein als der Trab, wogegen Asymmetrien an den Vorderbeinen etwas häufiger als an den Hinterbeinen auftreten

Schlussfolgerung für die Bewegungsanalyse

Es ist eher davon auszugehen, dass die „natürliche Schiefe“, ungleiche Hufe oder Gliedmaßenlänge, ein schiefes Becken, einseitige Muskelatrophien oder neuromuskuläre Adaptationsmechanismen leichte Bewegungsasymmetrien unabhängig von Schmerzzuständen bewirken können (2). Die Abgrenzung zwischen schmerzbedingten und anderen Abweichungen in der Bewegungssymmetrie ist allerdings nach wie vor nicht endgültig geklärt.

Von Greve und Dyson (2018) wurde zusammengefasst, dass es „...potentiell unzuverlässig ist sich auf einen einzelnen Parameter (z.B. Asymmetrie der Beckenbewegung) festzulegen, um eine Lahmheit festzustellen. Es scheint eine Grauzone zu geben, in der Bewegungsasymmetrien bei Pferden eher auf funktionelle Bewegungslateralität zurück zu führen sind. Die Erhebung von so

vielen Parametern wie möglich ermöglicht und verbesserte die Entscheidung, ob eine schmerzbedingte Bewegungsasymmetrie vorliegt.“ (2).

Literatur

1. Keegan KG, Dent EV., Wilson DA., Janicek J., Kramer J, LaCarrubba A. et al. (2010): Repeatability of subjective evaluation of lameness in horses. In: *Equine Veterinary Journal* 42 (2), S. 92–97. DOI: 10.2746/042516409X479568.
2. Greve L, Dyson S (2018): What can we learn from visual and objective assessment of non-lame and lame horses in straight lines, on the lunge and ridden? In: *Equine Vet Educ* 9, S. 2718. DOI: 10.1111/eve.13016.
3. Barrey Eric (1999): Methods, Applications and Limitations of Gait Analysis in Horses. In: *Vet J* 157, S. 7–22.
4. Pfau T, Robilliard JJ, Weller R, Jespers K, Eliashar E, Wilson AM. (2007): Assessment of mild hindlimb lameness during over ground locomotion using linear discriminant analysis of inertial sensor data. In: *Equine Vet J* 39 (5), S. 407–413. DOI: 10.2746/042516407X185719.
5. Keegan KG. (2010): The Lameness Locator (wireless inertial sensors for detection of lameness in horses). In: *Proceedings of the 15th Congress of the European Society Veterinary Orthopaedics and Traumatology* 15, S. 215–217, zuletzt geprüft am 22.08.2017.
6. Keegan KG, MacAllister CG, Wilson DA, Gedon CA, Kramer, J. et al. (2012): Comparison of an inertial sensor system with a stationary force plate for evaluation of horses with bilateral forelimb lameness. In: *American journal of veterinary research* 73 (3), S. 368–374, zuletzt geprüft am 22.08.2017.
7. Keegan, Kevin G.; Wilson, David A.; Kramer, Joanne; Reed, Shannon K.; Yonezawa, Yoshiharu; Maki, Hiromitchi et al. (2013): Comparison of a body-mounted inertial sensor system-based method with subjective evaluation for detection of lameness in horses. In: *American journal of veterinary research* 74 (1), S. 17–24. DOI: 10.2460/ajvr.74.1.17.
8. Deuel NR, Lawrence LM. (1987): Laterality in the gallop gait of horses. In: *Journal of Biomechanics* 20 (6), S. 645–649. DOI: 10.1016/0021-9290(87)90285-5.
9. Murphy J, Sutherland A, Arkins S. (2005): Idiosyncratic motor laterality in the horse. In: *Applied Animal Behaviour Science* 91, S. 297–310, zuletzt geprüft am 11.09.2017.
10. Heel MCV, Kroekenstoel AM, Dierendonck MC, Weeren PR, Back W. (2006): Uneven feet in a foal may develop as a consequence of lateral grazing behaviour induced by conformational traits. In: *Equine Veterinary Journal* 38 (7), S. 646–651. DOI: 10.2746/042516406X159070.
11. van Heel MCV, van Dierendonck MC, Kroekenstoel AM, Back W. (2010): Lateralised motor behaviour leads to increased unevenness in front feet and asymmetry in athletic performance in young mature Warmblood horses. In: *Equine Veterinary Journal* 42 (5), S. 444–450. DOI: 10.1111/j.2042-3306.2010.00064.x.
12. Rehren, Katharina Dorothee (2018): Untersuchung der "Schiefe" des Pferdes. Dissertation. Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover, zuletzt geprüft am 09.07.2019.
13. Ijspeert, Auke Jan (2008): Central pattern generators for locomotion control in animals and robots: a review. In: *Neural networks : the official journal of the International Neural Network Society* 21 (4), S. 642–653. DOI: 10.1016/j.neunet.2008.03.014.
14. Forrester, Larry W. (2008): Exercise-mediated locomotor recovery and lower-limb neuroplasticity after stroke. In: *JRRD* 45 (2), S. 205–220. DOI: 10.1682/JRRD.2007.02.0034.
15. Carter, Dennis R.; Beaupre, Gary S. (2001): *Skeletal function and form*. 1st Edition. New York, USA: Cambridge University Press (31-60, 80, 94-96, 114-116, 138, 154-155, 267-282).
16. Savoldi MT, Rosenberg GE. (2003): Uniform Sole Thickness -Researcher Explains How to Define a Heel. In: *American Farrier Journal* 35, zuletzt geprüft am 12.05.2016.
17. Savoldi MT. (2006): Kriterien zur Barhufzurichtung nach Ausrichtung der Hufsohle. In: *Pferdepiegel* 1, S. 30–31, zuletzt geprüft am 08.10.2017.
18. Hagen Jenny, Mäder Daniela, Wuttke Willy, Vogel Mandy (2018b): Short- and long-term effects of different hoof trimming methods on the equine phalangeal alignment. In: *Australian Equine Veterinarian* 37, in print, zuletzt geprüft am 02.02.2018.

19. Hagen Jenny, Kojah Kaid, Hüppler Michael, Vogel Mandy (2018a): Immediate effects of an artificial change in hoof angulation on the dorsal metacarpophalangeal joint angle and cross-sectional areas of both flexor tendons. In: Veterinary Record, accepted, zuletzt geprüft am 15.03.2018.
20. Gillis C, Meagher DM, Cloninger A, Locatelli L, Willits N. (1995): Ultrasonographic cross-sectional area and mean echogenicity of the superficial and deep digital flexor tendons in 50 trained Thoroughbred racehorses. In: American journal of veterinary research 56 (10), S. 1265–1269, zuletzt geprüft am 17.01.2017.
21. Gillis C, Sharkey N, Stover SM, Pool RR., Meagher DM, Willits N. (1995b): Effect of maturation and ageing on material and ultrasonographic properties of equine superficial digital flexor tendon. In: American journal of veterinary research 56, S. 1345–1350, zuletzt geprüft am 17.01.2017.
22. Dietz HC, Huskamp B. (Hg.) (2006): Richter W, Schneider J, Stanek C. Krankheiten am Mittelfuß In: Dietz, H. C. & Huskamp, B. (eds.) Handbuch Pferdepraxis. 3. Auflage. Stuttgart: Enke Verlag (1002-1105).
23. Kroekenstoel AM, van Heel MCV, van Weeren PR, Back Willem (2006): Developmental aspects of distal limb conformation in the horse. The potential consequences of uneven feet in foals. In: Equine Veterinary Journal 38 (7), S. 652–656. DOI: 10.2746/042516406X159089.
24. Wilson GH, McDonald K, O'Connell MJ. (2009): Skeletal forelimb measurements and hoof spread in relation to asymmetry in the bilateral forelimb of horses. In: Equine Veterinary Journal 41 (3), S. 238–241. DOI: 10.2746/042516409X395561.

Kontakt

PD Dr. Jenny Hagen, Veterinär-Anatomisches Institut und Klinik für Pferde, Hufbeschlagschule,
Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig
hagen@vetmed.uni-leipzig.de

Von der Ultrastruktur zum therapeutischen Konzept

Antonia Troillet, Walter Brehm

Klinik für Pferde, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig

Lahmheiten beim Pferd werden am häufigsten durch Erkrankungen der Gelenke verursacht (1). Darunter stellen degenerative Gelenkserkrankungen, die auch als Osteoarthritis (OA) oder degenerative Arthritis bezeichnet werden, die wohl größte Gruppe dar. Gekennzeichnet ist dieser Erkrankungskomplex durch fortwährende, teils subklinische Entzündungsprozesse, die zur nachhaltigen Schädigung aller am Gelenk beteiligten Strukturen bzw. Gewebe führen können. Mit dem Fortschreiten der OA sind morphologischen Veränderungen im und am Gelenk nicht mehr aufzuhalten. Auch wenn die Ursachen für die OA vielfältig sind, so ist doch das allgemein therapeutische Ziel, die Funktionalität des Gelenkes so weit wie möglich wieder herzustellen. Eine vollständige *restitutio ad integrum* ist dabei jedoch nicht immer möglich.

Über die Entstehung und den Verlauf degenerativer Gelenkserkrankungen wird seit Jahren intensiv geforscht. Studien aus der Humanmedizin sind jedoch nur eingeschränkt für das Pferd übertragbar. So wurden beim Pferd rheumatoide Erkrankungen bisher nahezu nicht beschrieben, auch wenn sich einige Studien mit Nachweismethoden einzelner Rheumafaktoren beim Pferd beschäftigen (2,3).

Allgemein ist der grundlegende, morphologische Aufbau eines diarthrotischen Gelenkes speziesübergreifend gleich. Die innenliegende Gewebsschicht, das *stratum synoviale*, besteht aus einer nur wenige Zellebenen einnehmenden Schicht, aus sogenannten Synovialdeckzellen. Diese, aus monozytärer Herkunft (Synoviozyten Typ A) und aus Fibroblasten-ähnlichen Zellen (Typ B) zusammengesetzte Zellpopulation, befinden sich vornehmlich in den Synovialzotten. Zellen des Typs A spielen eine entscheidende Rolle bei der lokalen Immunabwehr und werden als Makrophagen-ähnlich beschrieben. Zudem sind diese Gelenksmakrophagen in der Lage von Ihrer Lokalisation als Synovialdeckzelle aktiv in das Gelenksinnere abzuwandern und sich in der Synovialflüssigkeit anzureichern. Humanmedizinische Studien belegen, dass Gelenksmakrophagen zur initialen Immunantwort auf Fremdreize beitragen und eine entscheidende Rolle in der Entzündungskaskade der OA einnehmen (4). In der Pferdemedizin ist über den zeitlichen Verlauf der Einwanderung in das Gelenk wenig bekannt, auch nicht, inwieweit die Synoviozyten Typ A und/oder aus dem Gefäßsystem rekrutierte Makrophagen zur Anreicherung in der Gelenksflüssigkeit beitragen. Das Verhältnis von Typ A zu Typ B – Zellen wird von Autoren als altersabhängig beschrieben (5), derzeitige Untersuchungen am Pferd scheinen dies zu bestätigen. Eigene Untersuchungen zeigten ebenfalls eine höhere Zelldichte und Gewebssdicke des *stratum synoviale* bei Fohlen im Vergleich zu adulten Tieren. Die Zellen des Typs B sind für die Produktion von Hyaluronsäure verantwortlich, es werden diesen Zellen aufgrund ihrer Markeraffinität zu PGP9.5 auch neuro-endokrine Funktionen zugeschrieben. Dem *stratum synoviale* liegt das aus Fibroblasten und Kollagenfasern bestehendem *stratum fibrosum* außen an. In dieser Gewebsschicht sind histologisch Blutgefäße, Lymphgefäße und Nerven nachweisbar. In an OA erkrankten Gelenken bei Pferden konnte ein Rückgang an Nervenfasern in den oberflächlich gelegenen Synovialschichten zu Gunsten einer erhöhten Nervenfaser- und Gefäßdicke in tiefer gelegenen Schichten nachgewiesen werden (6). Diverse Neurotransmitter zur Schmerzleitung sind beim Pferd in allen Schichten der Gelenkskapsel zumeist perivaskulär nachgewiesen worden. Ein wichtiger, im Zusammenhang mit Gelenkserkrankungen nachgewiesener Neurotransmitter ist PGE₂.

Dem praktischen Tierarzt sind die klinischen Zeichen einer Gelenkentzündung bei Pferden vertraut: Schwellung, vermehrte Wärme und *functio laesa* sind u.a. Kardinalsymptome. Diese

Zeichen basieren auf morphologisch-ultrastrukturellen Veränderungen der Gelenksauskleidung und des Gelenkknorpels im Zuge der Entzündung. Die Entzündungskaskade bei der OA ist nur in Teilen geklärt und muss aus der Humanmedizin für das Pferd in großen Teilen übernommen werden.

Übergreifend kann gesagt werden, dass dem Anstieg pro-inflammatorischer Zytokine die ausschlaggebende Rolle in dem Prozess der OA zukommt. Die wichtigsten Zytokine einer beginnenden OA scheinen in diesem komplexen Prozess IL-1 und TNF-alpha zu sein. Ein therapeutischer Ansatz zur Reduktion des IL-1 ist der durch Blutinkubation oder im Thrombozytenlysat angereicherte IL1-Rezeptor Antagonist (IL-1Ra), eines der stärksten, autologen und anti-inflammatorischen Zytokine. Der Einsatz dieser Therapie erfolgt sowohl in der Human- als auch in der Pferdemedizin durch intraartikuläre Injektion des aufgearbeiteten Eigenbluts. Ohne weitreichende, klinische Anwendung beim Pferd wurden bereits Anti-TNF-alpha Antikörper experimentell zur Reduktion pro-inflammatorischer Zytokine in den Synoviozyten erfolgreich getestet. Die sogenannte Gentherapie nutzt den adenoviralen Gentransfer um ein IL-Ra Gen in Gelenke zu transferieren. So konnte das IL-1Ra über einen Zeitraum von bis zu 28 Tagen erhöht werden, die klinischen Zeichen einer OA wurden signifikant verbessert (7).

Der Anstieg der bereits genannten, pro-inflammatorischen Zytokine führt im Verlauf der OA zur Ausschüttung weitere Zytokine aus Synoviozyten und Chondrozyten (u.a. IL-6, MMP-9, MMP-2, MMP-3) sowie zu einem erhöhten Nachweis sogenannter acute-phase Proteinen sowohl im Serum als auch in der Synovialflüssigkeit. Unter anderem konnten Serum-Amyloid-A, d-dimer und Fibrinogen auch beim Pferd als sensible Marker für OA definiert werden, auch wenn diese Proteine in der Leber synthetisiert werden, reichern sie sich wahrscheinlich durch erhöhte Gefäßpermeabilität in der Synovialflüssigkeit an.

Neben der erwähnten, direkten Blockade pro-inflammatorischer Zytokine, zielen andere, regenerative Behandlungsstrategien auf die intra-artikuläre Anreicherung von Wachstumsfaktoren ab. So ist das Ziel einer Thrombozyten-gestützten Behandlung aus Eigenblut die Ausschüttung diverser Wachstumsfaktoren aus den alpha-Granula der Thrombozyten, die als Promotor für Zellrekrutierung, Mitose und Morphogenese fungieren sollen. Der Einsatz von mit Thrombozyten angereichertem Plasma (PRP) zur Behandlung der OA wird jedoch kontrovers diskutiert. Da diese Produkte im Plasma gelöstes Fibrinogen, Leukozyten und Erythrozyten enthalten, kann die Applikation in bereits entzündlich veränderten Gelenken zu einer vermehrten Gelenksfüllung, erhöhten Zellzahlen und Neutrophilie *post injectionem* führen. Auch wurde ein Anstieg von PGE2 in *in-vitro* Experimenten beim Pferd nachgewiesen (8). Studien zeigten in gesunden Gelenken einen deutlich höheren Anstieg der Wachstumsfaktoren PDGF-BB und TGF-β1 als im OA-Gelenken (9), was als Hinweis für eine eingeschränkte Zytokinantwort durch die vorliegende Zellschädigung in OA betroffenen Gelenken angesehen werden kann. Die intra-artikuläre Applikation von mesenchymalen Stromazellen (MSCs) zielt nach neueren Erkenntnissen ebenfalls auf die Modulation der Entzündungskaskade durch Zell-zu-Zell Interaktionen und die die Sekretion extrazellulärer Vesikel im Gelenk ab. Erste klinische Studien zeigen längerfristig positive Ergebnisse bezüglich der Einsatzfähigkeit an gering-bis mittelgradig erkrankten Tieren mit OA des Fesselgelenkes (10).

Ein auch in der Humanmedizin hoffnungsvoller, therapeutischer Ansatzpunkt ist die Modulation der synovialen Makrophagen, da auf zellulärer Ebene der Makrophagen-shift zum Typ 1 (pro-inflammatorisch) vom Typ 2 (anti-inflammatorisch) mit dem Grad der OA beim Mensch korreliert (4). Das Gleichgewicht aus M1/M2 Makrophagen ist für die Gelenksgesundheit bestimmend. Der Nachweis und die Modulation von Makrophagen-Untereinheiten im Gelenk werden auch von Seiten der Autoren für die Pferdemedizin verfolgt.

Wissenschaftler sind sich einig, dass zukünftige Therapien auf immunologischer Ebene eingreifen müssen. Hierfür bedarf es weiterer, umfassender wissenschaftlicher Leistungen. Ob Forschungsergebnisse aus der Humanmedizin auch für uns als Pferdetierärzte anwendbar sind, bleibt abzuwarten und muss in experimentellen und eigenen klinischen Studien nachgewiesen

werden. Hierfür bedarf es unter anderem Wissen über die spezies-spezifische Ultrastruktur des synovialen Gewebes.

Literatur

1. Equine health survey highlights the prevalence of lameness. *Veterinary Record*. 2013;173: 132.
2. HoikhmanR, Kudlackova H, Babak V, Faldyna M, Jahn P. Detection of IgM-rheumatoid factor and anti-citrullinated protein antibodies in healthy horses and their comparison. *Vet Immunol Immunopathol*. 2018;202:141-146.
3. Harland M, Harland L-C, Schütte A, Dähnrich C, Heidbrink U, Lipkowski M. Evaluation der Antikörperdiagnostik aus der Human- Rheumatologie beim Pferd. *Pferdeheilkunde*. 2007;23(5):501-504.
4. Liu B, Zhang M, Zhao J, ZhengM, Yang H. Imbalance of M1/M2 Macrophages is linked to severity level of osteoarthritis. *Experimental and therapeutic medicine*. 2018;16:5009-5014.
5. Jilani m, Ghadially FN. An ultrastructural study of age-associated changes in the rabbit synovial membrane. *J Anat*. 1986(146):201-215
6. Pujol R, Girard CA, Richard H, Hassanpour I, Binette MP, Beauchamp G, McDougall JJ, Laverty S. Synovial fiber density decreases with natural-occurring osteoarthritis in horses. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2018; 26:1379-1388.
7. Frisbie DD, Ghivizzani SC, Robbins PD, Evans CH, McIlwraith CW. Treatment of experimental equine osteoarthritis by invivo delivery of the equine interleukin-1 receptor antagonist gene. *Gene Ther*. 2002;9:12-20.
8. Machado TSL, Massoco CO, Silva LCLC, Fülber J, Moreira JJ, Baccarin RYA. Effects of blood-derived products and sodium hyaluronate on equine synovial fluid cells and on synovial fluid from osteochondrotic joints of horses after arthroscopy and administration of treatment. *Am J Vet Res*. 2019;80(7):646-656.
9. Smit Y, Marais HJ, Thompson PN, Mahne AT, Goddard A. Clinical findings, synovial fluid cytology and growth factor concentrations after intra-articular use of a platelet-rich product in horses with osteoarthritis. *J S Afr Vet Assoc*. 2019;90:e1-e9.
10. Equine allogeneic chondrogenic induced mesenchymal stem cells are an effective treatment for degenerative joint disease in horses. *Stem cells and development*. 2019;28(6):410-422.

Kontakt

Dr. Antonia Troillet, Klinik für Pferde, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig, Leipzig
troillet@vetmed.uni-leipzig.de

Grundlagenarbeiten zum Einsatz von autologem konditioniertem Serum zur Therapie der Osteoarthritis des Pferdes

Juliane Lasarzik de Ascurra

Abteilung Chirurgie und Orthopädie, Klinik für Pferde, Allg. Chirurgie und Radiologie, Freie Universität Berlin

Seit Jahrzehnten konzentriert sich die wissenschaftliche Forschung auf die Aufklärung der komplexen Pathologie der Osteoarthritis (OA) und der Entwicklung von Therapieformen, die nicht nur Symptombefreiung schaffen, sondern auch regenerative Wirkung besitzen. In den letzten Jahren konnte grundlegendes Wissen über die Synthese und den Wirkungsmechanismus von Interleukin 1 Beta (IL-1 β) und den Interleukin-1 Rezeptor Antagonist (IL-1ra), welche eine Schlüsselrolle in der Pathogenese von OA einnehmen, erlangt werden. Daraus resultierend entwickelten sich verschiedene Therapieansätze (z.B. ACS, PRP, Gentherapie), die durch intraartikuläre Substitution von IL-1ra versuchen das Verhältnis von IL-1 β und IL-1ra im Gelenk zu beeinflussen.

Autolog konditioniertes Serum (ACS) ist ein, aus Patientenblut hergestelltes, Serum zur intraartikulären Injektion. Hierfür wird steril gewonnenes Patientenblut, in einem Behältnis, welches Chromsulfat-beschichtete Glaskügelchen enthält, für 24 Stunden bei 37 °C inkubiert. Zwei In-vitro Studien aus Human- und Pferdemedizin (1, 2) konnten zeigen, dass es hierbei zu einem Anstieg antiinflammatorischer Zytokine und Wachstumsfaktoren kommt. Im Fokus dieser Therapie steht der Interleukin-1-Rezeptor-Antagonist (IL-1ra), ein natürlicher Gegenspieler des Interleukin-1 β , welcher durch kompetitive Hemmung die IL-1-Rezeptoren blockiert und somit die Aktivierung von Metalloproteinasen und anderen katabolen Prozessen verhindert, die zum Fortschreiten der OA beitragen. Arend (3) konnte in humanmedizinischen Studien zeigen, dass die 100- bis 2000-fache Konzentration von IL-1ra gegenüber IL-1 β benötigt wird um dessen Wirkung zu hemmen. Der Therapieansatz der intraartikulären ACS-Behandlung hat folglich das Ziel der negativen Wirkung von IL-1 β durch eine Erhöhung der IL-1ra Konzentration entgegenzuwirken.

Die ACS Therapie wird seit vielen Jahren in der Behandlung osteoarthritischer Gelenke beim Pferd und Menschen eingesetzt. Dennoch ist das Wissen bezüglich der IL-1 β und IL-1ra Konzentrationen in gesunden und OA Gelenken und deren Beeinflussung durch intraartikuläre IL-1ra Substitution immer noch lückenhaft und auch über die Zusammensetzung und Wirkung von autolog konditioniertem Serum ist bisher wenig bekannt.

Daher untersuchten wir zum einen die Höhe der Konzentrationen von IL-1ra und IL-1 β in gesunden Gelenken im Vergleich zu osteoarthritischen Gelenken beim Pferd und konnten zeigen, dass es in letzteren zu einem signifikanten Anstieg beider Konzentrationen kommt (4). Somit scheint ein paralleler Anstieg von beiden Zytokinen ein Indikator für eine Gelenkentzündung zu sein. Aufgrund der großen Konzentrationsspanne und – Überlappung dieser beiden Zytokine sind sie alleine jedoch nicht geeignet, um eine eindeutige Differenzierung zwischen gesunden Gelenken und verschiedenen OA Stadien vorzunehmen (5). Weitere Untersuchungen in Kombination mit anderen Biomarkern sind notwendig, um eine eindeutige Differenzierung von pathologischen Prozessen in Gelenken zu ermöglichen.

Des Weiteren führte die intraartikuläre ACS-Injektion, in einer vergleichenden Behandlungsstudie, zu einem signifikanten Anstieg der synovialen IL-1ra Konzentration, diese sank jedoch innerhalb von 48 Stunden zurück auf den Ausgangswert. Diese Ergebnisse lassen auf eine Halbwertszeit für IL-1ra von weniger als 48 Stunden schließen und hinterfragen damit das unter Praktikern weit verbreitete Behandlungsprotokoll von 3-6 intraartikulären Injektionen im Abstand von je ein bis zwei Wochen. Ein Behandlungsprotokoll von 3 aufeinanderfolgenden ACS-Injektionen im

Abstand von jeweils 2 Tagen führte im Vergleich zu vorgenanntem zu einer signifikanten Reduktion der Zytokine IL-1 β und IL-1ra sowie von Biomarkern des Knorpelstoffwechsels (C1,2C, CP II und CS 846) auf Konzentrationen in gesunden Gelenken (6). Dies spricht für eine Verminderung der Gelenkentzündung sowie der knorpelabbauenden Prozesse, was zu der Annahme führt, dass ein Zwei-Tages-Intervall den ACS Behandlungen im 1- bis 2-Wochen-Intervall vorzuziehen ist. Es sind jedoch weitere Studien mit größerer Probandenzahl und einheitlicheren OA-Ätiologien notwendig, um diese Annahme zu überprüfen.

Hraha, Doremus (1) haben in ihrer Studie gezeigt, dass auch die Inkubation von Blut in normalen Blutröhrchen aus Glas zu einer Erhöhung der IL-1ra Konzentration führt. In einer dritten Studie verglichen wir daher die Herstellung von ACS in kommerziellen ACS-Kits mit der Inkubation von Blut in kommerziellen Serum-Glas-Röhrchen. Letztere erreichten vergleichbare Konzentrationen in allen untersuchten Parameter (L-1ra, IL-1 β , IGF-1 α) (7). Das ACS aus kommerziellen ACS-Kits erreichte somit keine signifikant höheren Biomarker-Konzentrationen im Vergleich mit ACS aus kommerziell erhältlichen Serum-Glas-Röhrchen. Weiterführende klinische Behandlungsstudien sind notwendig um zu klären ob ACS aus Serum-Glas-Röhrchen eine vergleichbare Wirkung im Gelenk erzielt wie das herkömmliche ACS. Eine Studie von Carlson, Stewart (8) wirft jedoch die Frage auf, ob eine Inkubation grundsätzlich nötig ist. In der genannten Studie wurde die Wirkung von ACS und unkonditioniertem Serum auf equine Knorpelmatrix untersucht und nur eine minimal bessere Wirkung des ACS gegenüber letzterem festgestellt.

Zusammenfassend liegt die Halbwertszeit von ACS nach unseren Ergebnissen deutlich unter einer Woche, was eine Reduktion des bisher üblichen wöchentlichen Behandlungsintervalls nahelegt. Ein 2-Tage-Behandlungsintervall hat in unseren Studien, im Vergleich zum vorgenannten, zur deutlichen Reduktion der Konzentrationen von OA-Biomarkern im Gelenk geführt und scheint daher als Behandlungsprotokoll geeigneter zu sein. Die Inkubation von Blut in Serum-Glas-Röhrchen erzielte mit ACS-Kits vergleichbare Zytokin- und Wachstumsfaktor-Konzentrationen und könnte daher eine interessante Alternative für die Praxis darstellen, jedoch sind weitere Studien notwendig um dies zu bestätigen.

Literatur

1. Hraha TH, Doremus KM, McIlwraith CW, Frisbie DD. Autologous conditioned serum: the comparative cytokine profiles of two commercial methods (IRAP and IRAP II) using equine blood. *Equine veterinary journal*. 2011;43(5):516-21.
2. Meijer H, Reinecke J, Becker C, Tholen G, Wehling P. The production of anti-inflammatory cytokines in whole blood by physico-chemical induction. *Inflammation research : official journal of the European Histamine Research Society [et al]*. 2003;52(10):404-7.
3. Arend WP. Interleukin-1 receptor antagonist: discovery, structure and properties. *Progress in growth factor research*. 1990;2(4):193-205.
4. Lasarzik J, Lischer C, Ehrle A, Estrada R, Rettig M, Klaus C, et al. Interleukin-1 Receptor Antagonist and Interleukin-1 Beta Levels in Equine Synovial Fluid of Normal and Osteoarthritic Joints: Influence of Anatomic Joint Location and Repeated Arthrocentesis. *J Equine Vet Sci*. 2016;42:67-72.
5. Ehrle A, Lischer CJ, Lasarzik J, Einspanier R, Bondzio A. Synovial fluid and serum concentrations of interleukin-1receptor antagonist and interleukin-1 β in naturally occurring equine osteoarthritis and septic arthritis. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2015;35:815-22.
6. Lasarzik J, Bondzio A, Rettig M, Estrada R, Klaus C, Ehrle A, et al. Evaluation of Two Protocols Using Autologous Conditioned Serum for Intra-articular Therapy of Equine Osteoarthritis—A Pilot Study Monitoring Cytokines and Cartilage-Specific Biomarkers. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2018;60:35-42.
7. Lasarzik de Ascurra JE, Anna; Einspanier, Ralf; Lischer, Christoph. Influence of incubation time and incubation tube on the cytokine and growth factor concentrations of autologous conditioned serum in horses. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2019;75:30-4.

8. Carlson ER, Stewart AA, Carlson KL, Durgam SS, Pondenis HC. Effects of serum and autologous conditioned serum on equine articular chondrocytes treated with interleukin-1beta. American journal of veterinary research. 2013;74(5):700-5.

Kontakt

Dr. Juliane Lasarzik de Ascurra, Abteilung Chirurgie und Orthopädie, Klinik für Pferde, Allg. Chirurgie und Radiologie, Freie Universität Berlin, Berlin
Juliane.lasarzik@fu-berlin.de

Die erste arzneimittelrechtlich zugelassene Zelltherapie zur Gelenkbehandlung beim Pferd

Jan H. Spaas, Charlotte Beerts, Sarah Y. Broeckx

Global Stem cell Technology NV, Evergem, Belgium

The first regulatory approved cell therapy for joint treatment in horses

Abstract

Osteoarthritis is a devastating disease in equine medicine, affecting millions of horses all over the world. Different therapies are being explored due to the lack of sustainable treatments with long-term beneficial effects. One of these novel treatments are cell based therapies which are classified as medicinal products and are therefore regulated by the federal (decentralized procedure) or European (centralized procedure) medicines agency. In the present manuscript, parts of the development process from an experimental cell culture towards the first licensed cell based therapy in veterinary medicine are being reported.

Introduction

Osteoarthritis (OA) is a well know and common problem in human and equine medicine. The disease starts in most cases with an injury in the joint cartilage or soft tissues. This initial trigger leads to inflammation and progressive damage of articular cartilage together with changes in the bone and the surrounding soft tissues (1). Approximately 25% of horses are affected with lameness at some point of their life time and in more than half of the cases this is caused by osteoarthritis (2,3). Considering that there are approximately 14 million horses registered in official databases in Europe, the US and Canada (4,5), several million horses suffer from osteoarthritis at a certain point in life.

Currently, in both human and veterinary medicine, different treatments are available to ease the pain and increase the patient's comfort. However, these therapies mainly focus on reducing the symptoms of OA, but do not prevent further cartilage degradation. More recently, in search for treatment alternatives, cell-based therapies are being investigated due to their biological nature and regenerative potential (6-9). Indeed, there are clear indications that intra-articular application of stem cells improves cartilage healing (6-7).

Relevant regulations

Veterinary stem cell treatments are defined as veterinary medicinal products according to the pharmaceutical act of the EU (10) and are thus subjected to strict regulations. These are being enforced by the federal agency for the manufacturing and marketing authorization when applied under a decentralized procedure or for a centralized marketing authorization by the European Medicines Agency (EMA). In human medicine, 1,052 novel clinical stem cell trials have been identified so far, but only 3.5% resulted in a successful marketing authorization (11), indicating the difficulty to demonstrate evidence based efficacy and/or safety of a medicinal product. For this reason, in veterinary medicine only in 2019 the first veterinary stem cell product has been licensed by the European authorities (12, 13).

Product characteristics

Mesenchymal stem cells (MSCs) were derived from the peripheral blood of healthy prequalified adult horses and were fully immunophenotypically and functionally characterized according to guidelines of the international society for cellular therapy, as previously described (8). Then, the

MSCs were primed towards the chondrogenic lineage using cartilage specific substances. An organ culture study was performed with 180 cartilage explants to test different cell concentrations and mechanical loading with different treatment groups: no lesion (i), lesion alone (ii), lesion with naïve MSCs (iii), lesion with chondrogenically-induced MSCs (iv) and lesion with chondrogenically-induced and pulsed electromagnetic field (PEMF)-stimulated MSCs (v) (14).

Cartilage gene expression was selectively increased by chondrogenic induction ($p = 0.0488$). In the unloaded group, MSCs adhered to the surface in 92.6% of the explants and penetrated into 40.7% of the lesions. On the other hand, physiological loading significantly reduced surface adherence (1.9%) and lesion filling (3.7%) in all groups ($p < 0.0001$). Homogenous cell adhesion was characteristic for chondrogenic induced MSCs (+/- PEMFs), whereas clump formation occurred in 39% of uninduced MSC cartilage explants. Unloaded explants seeded with a low cell numbers resulted in greater lesion filling ($p = 0.0022$) and surface adherence ($p = 0.0161$) (14).

Clinical trials

Randomized, double-blinded, placebo-controlled studies were performed to evaluate the efficacy of equine allogeneic chondrogenic-induced mesenchymal stem cells (ciMSCs) combined with the excipient equine allogeneic plasma (EAP) as a novel therapy for osteoarthritis in horses (15, 16).

Osteoarthritis was induced in the metacarpophalangeal joint of twelve healthy horses using an osteochondral fragment-groove model as previously reported (17). Horses were randomly assigned to an intra-articular injection with ciMSCs + EAP or to 0.9% saline solution at 5 weeks after surgery until study end at 11 weeks (15). A temporary swelling, warmth and lameness occurred very commonly (50%) in both treatment groups. No serious adverse events or suspected adverse drug reactions occurred during the study. Visual and objective (using a lameness locator) lameness evaluation demonstrated significant improvement with ciMSCs + EAP compared to placebo. A significantly higher synovial fluid viscosity with significantly lower glycosaminoglycan loss from the cartilage was present after ciMSCs + EAP treatment. Significantly less wear lines and synovial hyperemia were present after ciMSCs + EAP. The amount of cartilage oligomeric matrix protein, collagen type II and glycosaminoglycans were significantly higher in articular cartilage after ciMSCs + EAP treatment (15).

In a field trial, 75 adult horses with early signs of inflammatory fetlock joint disease and a 2-3 grade lameness on the AAEP scale were enrolled in a randomized, multicenter, double blinded, and placebo controlled study. An intra-articular injection with ciMSCs with EAP was given to 50 horses, and 25 horses were treated with 0.9% NaCl placebo. A temporary swelling, warmth and lameness occurred commonly in both treatment groups up to one week after injection. From 3 weeks after treatment, lameness ($P < 0.001$), flexion response ($P \leq 0.033$) and swelling ($P < 0.001$) significantly reduced in the ciMSCs + EAP treatment group (16). From 6 weeks after the treatment 78% of the ciMSC + EAP treated horses were back into work, as compared to 24% in the placebo group. One year post treatment most of the stem cell treated horses (84%) were working at training level or returned to their previous level of work (16).

Discussion

With every cell therapy it is indispensable to perform a thorough characterization of the cell culture and to standardize the production process. Production should therefore be executed according to good manufacturing practices (GMP) in clean rooms with European Pharmacopoeia qualified sterility tests as batch release according to European legislation (10). All these aspects allow a controlled process in an aseptic environment which makes sure the product is sterile before use.

When developing a new medicinal product, a proper safety and efficacy profile needs to be established using standardized, randomized, controlled and blinded studies according to Good

Clinical Practice (GCP). In this regard, the current studies were performed in GCP qualified centers with GCP trained personnel. Concerning the safety profile it was clear that swelling, heat and lameness occurred frequently after an intra-articular injection, regardless the product used. It is therefore important to inform the owners of possible events correlated to arthrocentesis. Moreover, the present studies using allogeneic peripheral blood-derived stem cells report similar or lower adverse events in comparison to other cell-based therapies in horses (18, 19).

However, it should be considered that MSCs are heterogeneous in major histocompatibility complex (MHC) expression [20], which are rejection proteins and should therefore be tested *in vitro* before clinical application. The patients in the present studies were not matched with the donor, however, very low levels of MHC have been reported in peripheral blood-derived MSCs [9], offering an explanation for the low number of horses with clinical signs of inflammation after injection in comparison to allogeneic bone marrow MSCs [19]. It should also be mentioned that all batches were tested for low MHC levels before clinical application and all horses in the field trial received a single injection of an NSAID at the day of intra-articular injection, which was not the case in the experimental model.

Moreover, a clear efficacy profile was established after using ciMSCs + EAP in fetlock joints of horses. Efficacy was evaluated and established both under controlled experimental conditions using a highly standardized proof of concept study, and in a field trial with a clearly defined case selection and placebo controlled. This led to the first marketing authorization for a stem cell based product in the history of veterinary medicine (12, 13). Unfortunately, many of the products that are currently being used for treating equine osteoarthritis have not been authorized due to the lack of quality, safety and/or efficacy investigation and therefore do not allow drawing any conclusions on their potential.

It should be mentioned that proper case selection based on the correct diagnosis with consideration of the disease stage is a key factor contributing to the success of regenerative therapies. The prognosis is indeed influenced by the progression of the disease and by secondary injuries that might occur due to the degenerative nature of osteoarthritis, or comorbidity. Furthermore, the training level, rehabilitation schemes and supportive management of sport horses should be adapted to the individual case and play an important role for these athletes to return to their original level after any type of orthopedic injury or treatment.

References

1. McIlwraith CW, Frisbie DD, Kawcak CE. The horse as a model of naturally occurring osteoarthritis. *Bone Joint Res* 2012;1:297-309.
2. Neundorff RH, Lowerison MB, Cruz AM, Thomason JJ, McEwen BJ, Hurtig MB. Determination of the prevalence and severity of metacarpophalangeal joint osteoarthritis in Thoroughbred racehorses via quantitative macroscopic evaluation. *Am J Vet Res* 2010;71:1284-93.
3. Van Weeren PR, de Grauw JC. Pain in osteoarthritis. *Vet Clin North Am Equine Pract* 2010;26:619-642.
4. Liljenstolpe C. Horses in Europe. *Equus Conference* 2009;1:2-3.
5. Council AH. 2017; <http://www.horsecouncil.org/economics/>.
6. Wilke MM, Nydam DV, Nixon AJ. Enhanced early chondrogenesis in articular defects following arthroscopic mesenchymal stem cell implantation in an equine model. *J Orthop Res* 2007;25:913-925.
7. McIlwraith CW, Frisbie DD, Rodkey WG, Kisiday JD, Werpy NM, Kawcak CE, Steadman JR. Evaluation of intra-articular mesenchymal stem cells to augment healing of microfractured chondral defects. *Arthroscopy* 2011;27:1552-1561.
8. Spaas JH, De Schauwer C, Cornillie P, Meyer E, Van Soom A, Van de Walle GR. Culture and characterization of equine peripheral blood mesenchymal stromal cells. *The Veterinary Journal* 2019;195(1):107-113.

9. Broeckx S, Zimmerman M, Crocetti S, Suls M, Marien T, Ferguson SJ, Chiers K, Duchateau L, Franco-Obregon A, Wuertz K, Spaas JH. Regenerative therapies for equine degenerative joint disease: a preliminary study. *PLoS One*. 2014;9:e85917.
10. Faltus T, Brehm W. Art. 1 No. 2 Directive 2001/82/EC, Cell-Based Veterinary Pharmaceuticals - Basic Legal Parameters Set by the Veterinary Pharmaceutical Law and the Genetic Engineering Law of the European Union. *Front Vet Sci* 2016;3:101..
11. Fung M, Yuan Y, Atkins H, Shi Q, Bubela T. Responsible Translation of Stem Cell Research: An Assessment of Clinical Trial Registration and Publications. *Stem Cell Reports* 2017;8:1190-1201.
12. <https://www.ema.europa.eu/en/news/first-stem-cell-based-veterinary-medicine-recommended-marketing-authorisation>
13. ec.europa.eu/health/documents/community-register/2019/.../anx_141802_nl.pdf
14. Spaas JH, Broeckx SY, Chiers K, Ferguson SJ, Casarosa M, Van Bruaene N, Forsyth R, Duchateau L, Franco-Obregón A, Wuertz K. Chondrogenic priming at reduced cell density enhances cartilage adhesion of equine allogeneic MSCs - a loading sensitive phenomenon in an organ culture study with 180 explants. *Cellular Physiology and Biochemistry* 2015;37(2): 651-665.
15. Broeckx SY, Martens AM, Bertone AL, Van Brantegem L, Duchateau L, Van Hecke L, Dumoulin M, Oosterlinck M, Chiers K, Hussein H, Pille F, Spaas JH. The use of equine chondrogenic-induced mesenchymal stem cells as a treatment for osteoarthritis: a randomized, double-blinded, placebo-controlled proof-of-concept study. *Equine Veterinary Journal* 2019;Epub ahead of print.
16. Broeckx SY, Seys B, Suls M, Vandenberghe A, Mariën T, Adriaensen E, Declercq J, Van Hecke L, Braun G, Hellmann K, Spaas JH. Equine allogeneic chondrogenic induced mesenchymal stem cells are an effective treatment for degenerative joint disease in horses. *Stem Cells and Development* 2019;28(6):410-422.
17. Broeckx SY, Pille F, Buntinx S, Van Brantegem L, Luc Duchateau L, Oosterlinck M, Chiers K, Bertone AL, Spaas JH*, Martens AM. Evaluation of an osteochondral fragment-groove procedure for induction of metacarpophalangeal joint osteoarthritis in horses. *American Journal of Veterinary Research* 2019;80(3):246-258.
18. Ferris DJ, Frisbie DD, Kisiday JD, McIlwraith CW, Hague BA, Major MD, Schneider RK, Zubrod CJ, Kawcak CE, Goodrich LR. Clinical outcome after intra-articular administration of bone marrow derived mesenchymal stem cells in 33 horses with stifle injury. *Veterinary Surgery* 2014;43(3):255-65.
19. Joswig AJ, Mitchell A, Cummings KJ, Levine GJ, Gregory CA, Smith R 3rd, Watts AE. Repeated intra-articular injection of allogeneic mesenchymal stem cells causes an adverse response compared to autologous cells in the equine model. *Stem Cell Research and Therapy* 2017;8(1):42.
20. Schnabel LV, Pezzanite LM, Antczak DF, Felipe MJ, Fortier LA. (2014). Equine bone marrow-derived mesenchymal stromal cells are heterogeneous in MHC class II expression and capable of inciting an immune response in vitro. *Stem Cell Res Ther* 5:13.

Contact address

Dr. Jan H. Spaas, Global Stem cell Technology NV
jan.spaas@anacura.com

Equine Asthma, review and novel findings on inflammation and anti-inflammatory therapy

Jean-Pierre Lavoie

University of Montreal

New name

Non-infectious lower airways diseases of horses have been known under different names over the years, and the ever-changing terminologies have led to great confusion in both the equine veterinary scientific and lay communities. The terms were changed to encompass newly discovered features of equine lower airway diseases. In the age of "Omics", both the volume and increased frequency of emerging discoveries now make this approach unsustainable. In the English language, heaves (RAO) and inflammatory airway diseases (IAD) share striking similarities with human asthma in terms of etiology, clinical presentation, lung histology and response to therapy. Asthma is a term easily understood by most horse owners, unlike current terminologies, and its easy translation into many different languages facilitates international dialogue on the disease. For these reasons, the medical term "equine asthma" was recently proposed to foster better communication between all stakeholders (1).

Based on severity, "**severe equine asthma**" is now used to describe the condition previously known as heaves or RAO (also equine COPD, chronic obstructive bronchitis, equine emphysema, ...), while "**mild or moderate equine asthma**" is used to describe what was known as "inflammatory airway disease" (2, 3).

Remodeling of the airways

Severe equine asthma remains a debilitating and incurable disease. The milder forms of equine asthma may resolve spontaneously, remain of a stable severity, or may progress to severe equine asthma. Recent findings suggest that inflammation-induced airway structural changes (remodeling) is responsible for the progression of equine asthma in some horses. The airway smooth muscle (ASM) mass, which contributes to the severity of bronchospasm, is 2 to 3 times greater in affected horses than in age-matched controls (4). Neutrophils, the predominant cells in the airway of severe asthmatic horses, likely contribute to these changes as neutrophil-derived exosomes promote in situ proliferation of smooth muscle and hyperplasia (5). The changes are not limited to the smooth muscle layer, as a thickening of the airway lamina propria also arises due to increased collagen and elastic fiber deposition (6). These alterations strongly correlate with the lung function confirming that airway remodeling contributes to asthma severity.

Therapy - Environment Changes

The long-term management of equine asthma is best achieved by decreasing the inhalation of antigens responsible for the lower airway inflammation and obstruction resulting in its clinical manifestation. While keeping horses on pasture is preferable, feeding affected horses with grass silage or pelleted and cubed hay combined with outdoor paddocks, or wood shavings or other less dusty bedding if stabled, has been shown to be appropriate alternatives. However, three months or more in a low dust environment may be required before maximal improvement in airway function is observed (7). Failure to respect this timeframe often leads to the erroneous conclusion by the owners that this approach is not effective for their horses. Importantly, clinical signs and lower airway inflammation and obstruction will recur in most asthmatic horses (and in all severe asthmatic horses), if they are returned to an offending environment.

Corticosteroids are the most effective treatment for equine asthma.

Systemically administered corticosteroids are rarely used for prolonged therapy in horses, because of the adverse effects that have been associated with them. A treatment of two (2) weeks or more, combined with decreased hay dust exposure, is recommended to control equine asthma. A one-week delay can be expected between the initiation of therapy and maximal clinical response in severely affected horses, although marked improvement is usually observed within a few days of drug administration (8-10). If a concurrent environmental control is not implemented, clinical signs are likely to recur soon after treatment has ceased. Dexamethasone (initial dose 0.04-0.06 mg/kg, PO, IM or IV for 7 to 10 days) is efficacious in controlling equine asthma. Oral prednisolone, even at high dosages (1–4 mg/kg bwt, once a day), is less potent than dexamethasone (8). Triamcinolone acetonide (20-40 mg, IM) also improves clinical signs and airway obstruction in severe asthmatic horses for up to five (5) weeks (11). Because long-acting corticosteroids are more likely to be associated with detrimental side effects, triamcinolone administration is recommended only when short-acting corticosteroids cannot be administered. Of caution, intra-articular triamcinolone is absorbed by systemic circulation and is equipotent as IM administration in treating equine asthma, possibly delaying the diagnosis of this condition(12).

Neutrophil insensitivity to corticosteroids

Corticosteroid administration does not normalize airway neutrophilia even after 6 months of therapy (7). This is in agreement with previous findings indicating that neutrophils persist in the airways of horses with severe asthma after short-term treatment with systemically administered corticosteroids (9, 11, 13). Taken together, these findings suggest a possible resistance of neutrophils to corticosteroid therapy. However, findings indicated that blood neutrophils are not less sensitive to corticosteroids than other leucocytes, suggesting that it is the inflammatory milieu within the asthmatic lungs that is responsible for this insensitivity.

Reversibility of remodeling

The airway subepithelial collagen deposition was reversed by 12-month treatment with either antigen avoidance or inhaled corticosteroid (ICS) administration (7). Therapy also reduced ASM mass (30% on average), but it remained greater (2 fold) than in healthy horses (7). Combined ICS and long-acting β_2 -agonist drugs (ICS/LABA) or ICS monotherapy alone equally induced a 30% decrease of the ASM mass at 3 months (but not after 1 month) (14).

These findings reveal that, once established, remodeling of the asthmatic airways is only partially reversible with current therapy. Therefore, efforts should be aimed at the early identification of susceptible horses and the implementation of preventative measures. The remodeling affecting the central airways can be monitored in clinical cases using endobronchial biopsies and endobronchial ultrasounds (EBUS) (15, 16).

References

1. Lavoie JP. Is the time primed for equine asthma? *Equine Veterinary Education*. 2015;27(5):225-6.
2. Couetil LL, Cardwell JM, Gerber V, Lavoie JP, Leguillette R, Richard EA. Inflammatory Airway Disease of Horses-Revised Consensus Statement. *J Vet Intern Med*. 2016.
3. Pirie RS, Cou  til LL, Robinson NE, Lavoie JP. Equine asthma: An appropriate, translational and comprehensible terminology? *Equine Vet J*. 2016;48(4):403-5.
4. Herszberg B, Ramos-Barbon D, Tamaoka M, Martin JG, Lavoie JP. Heaves, an asthma-like equine disease, involves airway smooth muscle remodeling. *J Allergy Clin Immunol*. 2006;118(2):382-8.
5. Vargas A, Roux-Dalvai F, Droit A, Lavoie JP. Neutrophil-Derived Exosomes: A New Mechanism Contributing to Airway Smooth Muscle Remodeling. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2016;55(3):450-61.

6. Setlakwe EL, Lemos KR, Lavoie-Lamoureux A, Duguay JD, Lavoie JP. Airway collagen and elastic fiber content correlates with lung function in equine heaves. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2014;307(3):L252-60.
7. Leclerc M, Lavoie-Lamoureux A, Joubert P, Relave F, Setlakwe EL, Beauchamp G, et al. Corticosteroids and antigen avoidance decrease airway smooth muscle mass in an equine asthma model. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2012;47(5):589-96.
8. Leclerc M, Lefebvre-Lavoie J, Beauchamp G, Lavoie JP. Efficacy of oral prednisolone and dexamethasone in horses with recurrent airway obstruction in the presence of continuous antigen exposure. *Equine Vet J*. 2010;42(4):316-21.
9. Vargas A, Boivin R, Cano P, Murcia Y, Bazin I, Lavoie JP. Neutrophil extracellular traps are downregulated by glucocorticosteroids in lungs in an equine model of asthma. *Respir Res*. 2017;18(1):207.
10. Picandet V, Leguillette R, Lavoie JP. Comparison of efficacy and tolerability of isoflupredone and dexamethasone in the treatment of horses affected with recurrent airway obstruction ('heaves'). *Equine Vet J*. 2003;35(4):419-24.
11. Lapointe JM, Lavoie JP, Vrins AA. Effects of triamcinolone acetonide on pulmonary function and bronchoalveolar lavage cytologic features in horses with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Vet Res*. 1993;54(8):1310-6.
12. Bessonnat A, Picotte K, Lavoie JP. Intra-articular triamcinolone acetonide improves lung function in horses with severe asthma. *Equine Vet J*. 2019.
13. Leguillette R, Tohver T, Bond SL, Nicol JA, McDonald KJ. Effect of Dexamethasone and Fluticasone on Airway Hyperresponsiveness in Horses With Inflammatory Airway Disease. *J Vet Intern Med*. 2017;31(4):1193-201.
14. Bullone M, Vargas A, Elce Y, Martin JG, Lavoie JP. Fluticasone/salmeterol reduces remodelling and neutrophilic inflammation in severe equine asthma. *Sci Rep*. 2017;7(1):8843.
15. Bullone M, Helie P, Joubert P, Lavoie JP. Development of a Semiquantitative Histological Score for the Diagnosis of Heaves Using Endobronchial Biopsy Specimens in Horses. *J Vet Intern Med*. 2016;30(5):1739-46.
16. Bullone M, Beauchamp G, Godbout M, Martin JG, Lavoie JP. Endobronchial Ultrasound Reliably Quantifies Airway Smooth Muscle Remodeling in an Equine Asthma Model. *PLoS One*. 2015;10(9):e0136284.

Contact address

Jean-Pierre Lavoie, Professor of Equine Internal Medicine and Associate Dean for Research
 Director of the Equine Asthma Research Laboratory, Faculty of Veterinary Medicine, University of
 Montreal
jean-pierre.lavoie@umontreal.ca

Atemwegsdiagnostik beim Pferd einschließlich BAL – ein Update für die Praxis

Judith Christine Winter

SYNLAB.vet GmbH

Einleitung

Equines Asthma und Atemwegsinfekte zählen zu den häufigsten Erkrankungen, mit denen Tierärzte in der Praxis konfrontiert sind. Eine präzise und trotzdem praktische Diagnostik ist wichtig, um Patienten zielgerichtet behandeln zu können. Insgesamt bildet eine bronchoalveoläre Lavage (BAL) eher ein Entzündungsgeschehen der tiefen Atemwege ab und ist daher für die Diagnostik von Equinem Asthma (IAD, RAO, SPAOPD) und speziellen Erkrankungen wie EMPF vorzuziehen, während ein Tracheobronchialsekret (TBS) gut für die Diagnostik von infektiösen Atemwegserkrankungen geeignet ist. Bei Verdacht auf eine infektiöse Atemwegserkrankung oder bei ausgeprägter Dyspnoe in Ruhe sollte auf eine BAL verzichtet werden, um eventuell gesunde Anteile der tiefen Atemwege nicht zu kontaminieren und den Gasaustausch nicht zu sehr einzuschränken.

Tracheobronchialsekret (TBS)

Die TBS-Entnahme ist einfach und schnell durchzuführen. Für eine bakteriologische Untersuchung sollte die Spitze des TBS-Katheters mit einem sterilen Gel verschlossen werden. Alternativ kann eine TBS-Spülprobe (mit etwa 20 ml Kochsalzlösung) durch das Endoskop oder auch nach lokaler Anästhesie durch die Haut gewonnen werden. Je nach Sekretmenge in den Atemwegen kann es nötig sein, die Probe zu zentrifugieren.

Der Ausstrich der TBS-Probe sollte möglichst zügig, spätestens innerhalb von 30 Minuten nach Entnahme erfolgen. Es sollte ein kleiner Tropfen Sekret dünn ausgestrichen werden, damit sich die Zellen nicht überlagern. Die physiologische prozentuale Zellzusammensetzung ist je nach Autor etwas unterschiedlich (Tabelle 1).

Das Vorkommen von Mukus, Epithelzellen und Bakterien wird mit + bis +++ bewertet. Bei Bakterien wird zusätzlich angegeben, ob sie vorwiegend intra- oder extrazellulär vorkommen. Außerdem wird auf das Vorkommen von Curschmannspiralen und phagozytierten Partikeln (Staub, Pflanzenanteile, Pilzhypen) geachtet. Hierbei spricht das Vorkommen von Pilzhypen in der Regel nicht für eine mykotische Pneumonie, sondern für eine Kontamination und gestörte Clearance, wie sie z.B. bei Equinem Asthma auftritt. Curschmannspiralen sind Sekretausgüsse aus den kleinen Bronchien und sprechen für das Vorliegen einer Atemwegsobstruktion, wie sie bei einer RAO vorkommt. Das Vorkommen von > 25 % neutrophilen Granulozyten spricht für das Vorliegen von Equinem Asthma. Bei einer bakteriellen Bronchitis kann ebenfalls ein erhöhter Gehalt an neutrophilen Granulozyten vorliegen. Zusätzlich würde man viele intrazelluläre Bakterien erwarten und eine entsprechende klinische Symptomatik (akutes Auftreten, Fieber, vergrößerte Mandibularlymphknoten). Das Vorkommen einer geringen Anzahl an intrazellulären Bakterien spricht eher für eine Kontamination oder wiederum für eine Clearancestörung. Typische Kontaminationskeime sind Staphylokokken, Pseudomonaden, Bacillus und Proteus spp. Sollten Sie wiederholt Probleme mit Pseudomonaden haben, spricht dies für eine Kontamination aus dem Arbeitskanal des Endoskops.

Werden vermehrt schaumige Makrophagen festgestellt, kann dies für eine gesteigerte Sekretbildung oder auch eine gesteigerte Clearance nach Therapie sprechen. Erhöhte Anteile an Mastzellen und eosinophilen Granulozyten kommen in TBS-Ausstrichen selten vor und sprechen für eine Hypersensitivitätsreaktion wie sie bei Equinem Asthma, insbesondere bei IAD vorkommen kann.

Bronchoalveoläre Lavage (BAL)

Die Gewinnung einer BAL eignet sich zur Diagnosestellung bei Equinem Asthma (IAD, RAO, SPAOPD), der interstitiellen Pneumopathie, bei EMPF und der idiopathischen eosinophilen Pneumonie. Es wird empfohlen, die BAL mit 500 ml phosphatgepufferter Kochsalzlösung durchzuführen. Eine schaumige Konsistenz der zurück gewonnenen Flüssigkeit spricht für eine gute Qualität. Wenn möglich sollte die BAL-Flüssigkeit vor Ort zentrifugiert und das Pellet ausgestrichen werden. Wenn dies nicht möglich ist, kann die Probe gekühlt versendet werden. Hierbei ist zu beachten, dass der Zellgehalt durch Lagerung und Transport um bis zu 30 % sinken kann.

Für eine bakteriologische Untersuchung ist eine BAL aufgrund einer möglichen Kontamination durch die oropharyngeale Flora weniger geeignet. Hier empfiehlt sich die Entnahme einer transendoskopischen TBS-Probe wie oben beschrieben oder auch eine transkutane Trachealspülprobe.

Nur Anhand der BAL kann (in Zusammenhang mit der klinischen Symptomatik) eine Einstufung in die Erkrankungen IAD (Inflammatory Airway disease) und RAO (Recurrent Airway Obstruction) getroffen werden. Ein Gehalt an neutrophilen Granulozyten von 10-20 % sowie erhöhte Gehalte an eosinophilen Granulozyten oder Mastzellen sprechen für das Vorliegen einer IAD. Bei einem Vorkommen von über 20 % neutrophilen Granulozyten in Kombination mit einem erhöhten Atemaufwand in Ruhe liegt eine RAO vor. Werden vermehrt Makrophagen gezählt, kann dies für eine interstitielle Pneumopathie sprechen. Zur weiteren Abklärung sollten Röntgenbilder der Lunge angefertigt werden. Das Vorkommen von Hämosiderophagen spricht für EIPH (Exercise induced pulmonary Hemorrhage = belastungsinduziertes Lungenbluten). Bei hohen Gehalten an eosinophilen Granulozyten sollte eine Erkrankung mit Lungenwürmern ausgeschlossen werden (*Dictyocaulus arnfieldi*), die vor allem bei Pferden auftritt, die zusammen mit Eseln gehalten werden. Sehr hohe Gehalte an eosinophilen Granulozyten könnten auf eine idiopathische eosinophile Pneumonie hinweisen. Hier wird zur weiteren Abklärung eine Lungenbiopsie empfohlen. Bei Verdacht auf EMPF kann zur weiterführenden Diagnostik ein Nachweis von EHV 5 (PCR) aus der BAL-Flüssigkeit erfolgen. Zusätzlich können Röntgenbilder angefertigt und eine Lungenbiopsie genommen werden.

Physiologische Zellpopulation in TBS und BAL

Tabelle 2: Übersicht über die physiologische Zellzusammensetzung in TBA und BAL

Zellart	TBS (Angaben in %)	BAL (Angaben in %)
Makrophagen	30-35	45-70
Lymphozyten	25-30	30-50
Neutrophile Granulozyten	10-30	<10
Mastzellen	<1	<2
Eosinophile Granulozyten	<1	<1

Biomarker

Da die Entnahme und Interpretation von BAL-Proben einiger Erfahrung bedarf, gibt es immer wieder Studien zu Biomarkern (Markern für Entzündung oder Remodelling) in Blut- und BAL-Proben von Pferden mit Lungenerkrankungen. In der BAL-Flüssigkeit zeigte sich hierbei, dass das Enzym Myeloperoxidase bei Pferden mit RAO in Remission und Exazerbation signifikant höher als bei gesunden Kontrolltieren ist. Myeloperoxidase ist ein lysosomales Enzym aus neutrophilen Granulozyten, das eine Rolle in der Regulation und Terminierung von Entzündungsprozessen spielt. Myeloperoxidase könnte daher als sensibler inflammatorischer Marker für subklinisch erkrankte Pferde gelten. Bei chronisch obstruktiven Lungenerkrankungen kommt es außerdem häufig zu Umbauprozessen im Bereich der Bronchienwände und des Lungenparenchyms, das als

„Remodelling“ bezeichnet wird. Matrix-Metalloproteinasen gelten als Marker dieses Remodellings. So sind MMP 8 und 9 bei Pferden mit RAO, aber auch mit IAD und interstitieller Pneumopathie erhöht. MMP 9 zeigte hierbei eine Korrelation zur Stallstaubbelastung und zum Grad der Neutrophilie in der BAL. Im Blut kann die Kombination der Parameter Surfactant Protein D (ein Protein des Lungensurfactant, das eine Rolle in der Immunregulation spielt), Haptoglobin (ein akute Phase Protein) und Sekretoglobin (ein sekretorisches Protein der Clarazellen) Pferde mit Equinem Asthma von der Kontrollgruppe unterscheiden. Die Spezifität beträgt 100%, die Sensitivität jedoch nur 45%. Entsprechend ist mit einer vergleichsweise hohen Anzahl an falsch negativen Patienten zu rechnen. Keiner dieser Parameter hat sich bisher in der Routinediagnostik durchgesetzt, trotzdem können diese Parameter in der Zukunft eventuell bei der Unterscheidung der verschiedenen Atemwegserkrankungen hilfreich sein.

Abkürzungen

Tabelle 3: Übersicht über die im Abstract verwendeten Abkürzungen

BAL	Bronchoalveoläre Lavage
EIPH	Exercise Induced Pulmoary Hemorrhage
EMPF	Equine Multinodular Pulmonary Fibrosis
IAD	Inflammatory Airway Disease
MMP	Matrixmetalloproteinase
RAO	Recurrent Airway Obstruction
SPAPD	Summer Pasture Associated Pulmonary Disease
TBS	Tracheobronchialsekret

Weiterführende Literatur

1. Hinchcliff KW, Couetil LL, Knight PK, Morley PS, Robinson NE, Sweeney CR et al. Exercise Induced Pulmoary Hemorrhage in Horses: American College of Veterinary Internal Medicine Consensus Statement. J Vet Intern Med. 2015; 29:743-758.
2. Gy C, Leclerc M, Vargas A, Grimes C and Lavoie J-P. Investigation of blood biomarkers for the diagnosis of mild to moderate asthma in horses. J Vet Intern Med. 2019; 33:1789-1795.
3. Bell SA, Drew CP, Wilson WD and Pusterla N. Idiopathic Chronic Eosinophilic Pneumonia in 7 Horses. J Vet Intern Med. 2002; 22:648-653.
4. Dunkel B. Pulmoary fibrosis and gammaherpesvirus infection in horses. Equine Vet Educ. 2012; 24:200-205.
5. Couetil LL, Cardwell JM, Gerber V, Lavoie J-P, Léguillette R and Richard EA. Inflammatory Airway Disease of Horses – Revised Consensus Statement. J Vet Intern Med. 2016; 30:503-515.
6. Cian F, Monti P and Durham A. Cytology of the lower respiratory tract in horses: An updated review. Equine Vet Educ. 2015; 27:544-553.
7. Barton AK, Venner M, Seemann-Jensen A and Ohnesorge B. Tracheobronchialsekret (TBS)-Analyse und Bronchoalveoläre Lavage (BAL) beim Pferd. Pferde-Spiegel. 2007; 2:60-65.
8. Barton AK, Shetty T, Wirth C and Gehlen, H. Diagnostic value of inflammatory markers in chronic respiratory disease of the horse – a review. Pferdeheilkunde. 2014; 30:432-443.

Kontakt

Dr. Judith Christine Winter, Expert Advisor Horses, SYNLAB.vet Berlin
judith.winter@synlab.com

Inhalation therapy: Effects of the prodrug ciclesonide administered with a novel device in severe equine asthma

Jean-Pierre Lavoie

University of Montreal

Inhaled medication has the advantage of achieving a high local concentration of the administered drug directly in the airways and at the same time minimizing its serum concentration and therefore, systemic effects. The efficacy of inhaled drugs for the treatment of pulmonary diseases depends on the dose and distribution of aerosols deposited in the lower respiratory tract and on the potency of the drug administered. Adequate aerosol deposition varies according to the size and shape of the airways, the breathing pattern, including tidal volume and flow rates. The optimal aerodynamic mass medium diameter for bronchial deposition is about 5 μ m. Particles greater than 10 μ m will usually deposit in the upper airways, while they are exhaled untouched when they are < 0.05 μ m. Limitation of inhalation therapy includes inability to deliver medications to areas that are not adequately ventilated, tissue irritation (potentially leading to bronchospasm) and inflammation, and potential contamination by microorganisms of the solution to be administered.

INHALATION DELIVERY SYSTEMS

Inhaled drugs can be delivered to a horse using a mechanical nebulizer, a metered dose inhaler (MDI) or recently, using Soft mist Respimat® technology. Using mechanical nebulizers, variable particle size will be generated depending on the drug, solute concentration and volume, ambient temperature and pressure, auxiliary airflow, and the device's operating time and pressure. Therefore, the delivery of drugs into the airways is likely to vary greatly from time to time with these devices. Based on reported values, less than 8% (0.3-7.4%) of the drugs will reach the lower airways; the remaining drugs will be swallowed. It is thus advisable to administer only drugs developed for the inhaled route and with a low gastrointestinal absorption.

Metered-dose inhalers are sealed canisters containing a drug and a propellant kept under pressure. The drug is delivered manually by activating a demand valve. MDIs are advantageous because they are easy to use and the amount of drugs delivered is constant. When drugs are administered with a MDI directly into the nostrils, only a minute amount of drugs is likely to reach the lung. The use of a spacer (chamber) improves the characteristics of the aerosol and decreases the dependency for synchronization with the beginning of inspiration for adequate delivery. The new Respimat® technology similarly forces a preset metered dose of the drug solution through a nozzle, producing two fine jets of liquid generating the soft mist. It is used with a new adaptor for the horse nostril comprising a respiration indicator in the chamber wall, which facilitates the identification of the breathing phases of the horse by deflection. The soft mist inhaler achieves a high fine particle fraction (~65–80% particles <5 μ m), a slow velocity of ejection of the soft mist, and the consequent relatively long generation time of the aerosol cloud. These factors result in larger amounts of the drug delivered to the lungs in humans with this technology (1).

Inhaled corticosteroids

Inhaled corticosteroids have revolutionized the treatment of asthma in humans, and are now commonly used for the treatment of equine asthma. These drugs are well suited for inhalation therapy because of the abundance of glucocorticoid receptors on the bronchial epithelial cells. This approach allows a maximal concentration of the drug within the airways and minimizes side effects.

Studies have shown efficacy of inhaled corticosteroids when administered using metered dose inhaler (MDI) attached to spacers (chamber) (2-9). A recent report indicated that dexamethasone administered with a mesh nebulizer does not improve the lung function of severe asthmatic horses, questioning the use of this therapeutic approach (10).

Ciclesonide is a pro-drug, enzymatically hydrolyzed to the active metabolite desisobutyryl-ciclesonide (des-CIC) within the bronchial epithelial cells. Des-CIC has anti-inflammatory activity with affinity for the glucocorticoid receptor that is 100–120 times higher than the parent compound (11). Ciclesonide administered to horses with severe asthma using the Respimat® technology and a novel nostril adaptor was recently reported. Dose titration studies indicate that administration of 2700 µg ciclesonide twice daily resulted in improvement in lung function comparable to that of dexamethasone, the most potent drug for this condition (12).

Ciclesonide displays high plasma protein binding and rapid systemic clearance. As systemic side effects of inhaled corticosteroids result from the interaction of unbound systemically available fraction of inhaled corticosteroids with glucocorticoid receptors expressed by non-pulmonary cells, ciclesonide has an excellent safety profile (11). Suppression of endogenous cortisol levels following inhaled corticosteroid therapy is indicative of an effect on the hypothalamic–pituitary–adrenal axis and represents undesired systemic activity. Unlike other corticosteroids studied in horses to date, ciclesonide treatment did not suppress serum cortisol levels at any of the tested doses (12-14). These results indicate that ciclesonide is a potent and safe treatment for equine asthma.

References

1. Dalby RN, Eicher J, Zierenberg B. Development of Respimat®(R) Soft Mist Inhaler and its clinical utility in respiratory disorders. *Med Devices (Auckl)*. 2011;4:145-55.
2. Giguere S, Viel L, Lee E, MacKay RJ, Hernandez J, Franchini M. Cytokine induction in pulmonary airways of horses with heaves and effect of therapy with inhaled fluticasone propionate. *Vet Immunol Immunopathol*. 2002;85(3-4):147-58.
3. Couetil LL, Chilcoat CD, DeNicola DB, Clark SP, Glickman NW, Glickman LT. Randomized, controlled study of inhaled fluticasone propionate, oral administration of prednisone, and environmental management of horses with recurrent airway obstruction. *Am J Vet Res*. 2005;66(10):1665-74.
4. Laan TT, Bull S, van Nieuwstadt RA, Fink-Gremmels J. The effect of aerosolized and intravenously administered clenbuterol and aerosolized fluticasone propionate on horses challenged with *Aspergillus fumigatus* antigen. *Vet Res Commun*. 2006;30(6):623-35.
5. Robinson NE, Berney C, Behan A, Derksen FJ. Fluticasone propionate aerosol is more effective for prevention than treatment of recurrent airway obstruction. *J Vet Intern Med*. 2009;23(6):1247-53.
6. Leclerc M, Lavoie-Lamoureux A, Joubert P, Relave F, Setlakwe EL, Beauchamp G, et al. Corticosteroids and antigen avoidance decrease airway smooth muscle mass in an equine asthma model. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2012;47(5):589-96.
7. Leguillette R, Tohver T, Bond SL, Nicol JA, McDonald KJ. Effect of Dexamethasone and Fluticasone on Airway Hyperresponsiveness in Horses With Inflammatory Airway Disease. *J Vet Intern Med*. 2017;31(4):1193-201.
8. Ammann VJ, Vrins AA, Lavoie JP. Effects of inhaled beclomethasone dipropionate on respiratory function in horses with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Equine Vet J*. 1998;30(2):152-7.
9. Couetil LL, Art T, de Moffarts B, Becker M, Melotte D, Jaspar F, et al. Effect of beclomethasone dipropionate and dexamethasone isonicotinate on lung function, bronchoalveolar lavage fluid cytology, and transcription factor expression in airways of horses with recurrent airway obstruction. *J Vet Intern Med*. 2006;20(2):399-406.
10. Mainguy-Seers S, Bessonnat A, Picotte K, Lavoie JP. Nebulisation of dexamethasone sodium phosphate for the treatment of severe asthmatic horses. *Equine Vet J*. 2019;51(5):641-5.

11. Mukker JK, Singh RSP, Derendorf H. Ciclesonide: A Pro-Soft Drug Approach for Mitigation of Side Effects of Inhaled Corticosteroids. *J Pharm Sci.* 2016;105(9):2509-14.
12. Lavoie JP, Bullone M, Rodrigues N, Germim P, Albrecht B, von Salis-Soglio M. Effect of different doses of inhaled ciclesonide on lung function, clinical signs related to airflow limitation and serum cortisol levels in horses with experimentally induced mild to severe airway obstruction. *Equine Vet J.* 2019.
13. Munoz T, Leclerc M, Jean D, Lavoie JP. Serum cortisol concentration in horses with heaves treated with fluticasone propionate over a 1 year period. *Res Vet Sci.* 2015;98:112-4.
14. Laan TT, Westermann CM, Dijkstra AV, van Nieuwstadt RA, Fink-Gremmels J. Biological availability of inhaled fluticasone propionate in horses. *Vet Rec.* 2004;155(12):361-4.

Contact address

Jean-Pierre Lavoie, DMV, Professor of Equine Internal Medicine and Associate Dean - Research Director, Equine Asthma Research Laboratory, Faculty of Veterinary Medicine, University of Montreal
jean-pierre.lavoie@umontreal.ca

Herausforderungen bei der Diagnostik von Nierenerkrankungen beim Pferd: Ist SDMA die Lösung?

Anastasios Moschos

IDEXX GmbH – Ludwigsburg

Die Frühdiagnose von Nierenerkrankungen beim Pferd bleibt heutzutage noch eine Herausforderung. Die klinischen Zeichen sind oft unspezifisch, Abweichungen der Laborparameter können erst spät im Krankheitsverlauf entstehen und die Gewinnung von Urinproben wird nicht routinemäßig durchgeführt. Es ist deswegen notwendig, weitere Parameter für die Frühdiagnose von chronischen Nierenerkrankungen zu erforschen.

In der Kleintiermedizin wird die Bestimmung von Symmetrischem Dimethylarginin (SDMA), eine methylierte Form der Aminosäure Arginin, für die Früherkennung von Nierenerkrankungen eingesetzt. SDMA wird im Körper nach Proteolyse des intranukleären Proteins in die Zirkulation freigesetzt und nahezu ausschließlich glomerulär filtriert und renal eliminiert. Studien mit Hunden und Katzen haben gezeigt, dass eine chronische Nierenerkrankung mittels SDMA im Durchschnitt früher erkannt werden kann als mit Kreatinin (1, 2, 3.). Zudem wird es weniger als Kreatinin von extrarenalen Faktoren, wie beispielsweise der Muskelmasse, beeinflusst (4, 5). SDMA wird von der International Renal Interest Society (IRIS) und anderen Veterinärnephrologen als ein weiteres Kriterium für die Frühdiagnose der chronischen Nierenerkrankung (CNE) bei Hunden und Katzen anerkannt (6).

Um die Anwendbarkeit von SDMA als Biomarker für die Nierenfunktion auch für Pferde zu überprüfen, beteiligte sich IDEXX an zwei klinischen Studien zur Validierung sowie zur Etablierung von Referenzintervallen von IDEXX SDMA® fürs Pferd. Diese Validierung erfolgte durch einen Vergleich der Ergebnisse des IDEXX SDMA® Tests von 178 Pferden mit der Goldstandard-Methode, der Flüssigchromatographie-Massenspektrometrie (LC-MS) (7). Die Studie bestätigte, dass der Test SDMA im Blut von Pferden präzise und spezifisch nachweist. Nach der Validierung wurde eine Referenzintervallstudie an gesunden adulten Pferden durchgeführt (7). Die Bestimmung des Referenzintervalls für IDEXX SDMA® beim Pferd erfolgte gemäß den Richtlinien des Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (8). Klinisch gesunde, adulte Pferde (basierend auf Vorbericht und klinischer Untersuchung) unterschiedlicher Rassen und Größen wurden für diese Studie ausgewählt. Als Referenzintervall für IDEXX SDMA® bei Pferden wurde 0 – 14 µg/dl bestimmt. Somit ist dieses identisch mit dem Referenzintervall bei adulten Hunden und Katzen.

Beim Pferd liegen noch keine Studien über SDMA bei pathologischen Prozessen vor. Außer der Diagnostik von Nierenerkrankungen, sind potenzielle Einsatzmöglichkeiten für SDMA beim Pferd die Überwachung/Nachkontrolle von Risikopatienten (Septikämie, Intoxikationen, Kolik, Überwachung während Operationen) oder auch im Bereich der Leistungsphysiologie.

Literatur

1. Nabity MB, Lees GE, Boggess M, et al. Symmetric dimethylarginine assay validation, stability, and evaluation as a marker for early detection of chronic kidney disease in dogs. J Vet Intern Med. 2015;29(4):1036–1044.
2. Hall JA, Yerramilli M, Obare E, Yerramilli M, Jewell DE. Comparison of serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine as kidney function biomarkers in cats with chronic kidney disease. J Vet Intern Med. 2014;28(6):1676–1683.

3. Hall JA, Yerramilli M, Obare E, Yerramilli M, Almes K, Jewell DE. Serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine in dogs with naturally occurring chronic kidney disease. *J Vet Intern Med.* 2016;30(3):794–802.
4. Hall JA, Yerramilli M, Obare E, Yerramilli M, Yu S, Jewell DE. Comparison of serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine as kidney function biomarkers in healthy geriatric cats fed reduced protein foods enriched with fish oil, L-carnitine, and medium-chain triglycerides. *Vet J.* 2014;202(3):588–596.
5. Hall JA, Yerramilli M, Obare M, Yerramilli M, Melendez LD, Jewel DE. Relationship between lean body mass and serum renal biomarkers in healthy dogs. *J Vet Intern Med.* 2015;29(3):808–814.
6. International Renal Interest Society. 2015 IRIS CKD Staging Guidelines. www.iris-kidney.com. Accessed June 27, 2016.
7. Daten hinterlegt bei IDEXX Laboratories, Inc. Westbrook, Maine USA.
8. CLSI. Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory; Approved Guideline - Third Edition. CLSI document EP28-A3c. Wayne, PA, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.

Umgang mit Antibiotikaresistenzen in Praxis und Klinik

Heidrun Gehlen

Klinik für Pferde, allg. Chirurgie und Radiologie der Freien Universität Berlin

Einleitung

Unter der Bezeichnung Antibiotikaresistenz werden Eigenschaften von Mikroorganismen zusammengefasst, die es ihnen ermöglichen, die Wirkung von antibiotisch aktiven Substanzen abzuschwächen oder ganz zu neutralisieren. Eine wichtige Ursache für die zunehmende Resistenzentwicklung im Human- und Veterinärmedizinbereich ist die unkritische Anwendung/ Abgabe von Antibiotika. Durch den wiederholten, unkritischen und breiten Einsatz werden resistente Mikroorganismen selektiert. Die Entstehung von Antibiotikaresistenzen kann nicht verhindert, sondern nur verlangsamt werden. Antibiotikaresistenzen sind im One-Health-Kontext eine der größten Herausforderungen für die globale Gesundheit dieser Zeit.

Die Ausbreitung von Infektionserregern, die oftmals auch auf Menschen übertragbar sind, ist ein zunehmendes Problem in der Veterinärmedizin insgesamt, und auch in klinischen Einrichtungen für Pferde [1-4]. Solche Erreger weisen zunehmend auch Multiresistenzen gegenüber Antibiotika vor. Zu diesen multiresistenten Infektionserregern (MRE) zählen u.a. Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) oder Extended-Spektrum Beta-Lactamase (ESBL)-bildende *Enterobacteriaceae* [5].

Multiresistente Infektionserreger haben inzwischen auch in Pferdekliniken zunehmend an Bedeutung gewonnen. Aufgrund steigender Zahlen von nosokomialer Infektionen (insbesondere postoperative Wundinfektionen) steigen die Anforderungen an Infektionsprävention und -kontrolle insbesondere in Kliniken.

Der Hygiene kommt, zur Sicherung des Erfolges tierärztlicher Eingriffe und Behandlungen, eine besondere Bedeutung zu. Neben organisatorisch-logistischen Maßnahmen und dem Gebrauch von Schutzkleidung, kommt den sorgfältig und sachgemäß ausgeführten Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen eine Schlüsselrolle in der Unterbindung des Erregereintrags, der Erregerpersistenz und des Erregerübertrags in der Klinik und Praxis zu.

Neben einem effektiven Hygienemanagement (Hygienemanagement-Leitfaden 2020 der GPM) ist auch ein rationaler Antibiotikaeinsatz erforderlich, um der Ausbreitung von resistenten Infektionserregern in Praxis und Klinik entgegenzuwirken [1, 6-8].

Rationaler Antibiotikaeinsatz

Die Antibiotikaleitlinien definieren die optimale Vorgehensweise im Umgang mit Antibiotika in der Tiermedizin. Der Antibiotikaeinsatz sollte verantwortungsvoll und rational erfolgen (antibiotic stewardship) um weitere Resistenzen zu verhindern, d.h. er sollte durch eine entsprechende Diagnose (nur bei bakteriellen Infektionen) begründet sein und es sollte ein geeigneter Wirkstoff gewählt werden. Bei der Applikationsform, Dosierung und Therapiedauer sollte berücksichtigt werden, dass das Zielgewebe erreicht wird und dort über einen erforderlichen Zeitraum ein ausreichend hoher Wirkspiegel vorliegt [9]. Ziel sollte sein, das Pferd bestmöglich zu behandeln und gleichzeitig Selektionsprozesse und Resistenzen bei den Bakterien zu verhindern. Ein prophylaktischer AB-Einsatz sollte grundsätzlich vermieden werden. Bei Infektionen hilft eine frühzeitige Typisierung des Erregers und seiner möglichen AB-Resistenzen eine zielgerichtete Antibiotikatherapie.

Hygienemanagement

Eine entscheidende Maßnahme zur Reduktion von Antibiotikaresistenzen ist es bakterielle Infektionen durch grundlegende Hygienemaßnahmen zu vermeiden. Für ein gutes Hygienemanagement und zur Infektionsprävention ist es unerlässlich, Tätigkeiten (insbesondere am Patienten) geeignet vorzubereiten. Hierbei können Hygienepläne und sogenannte standardisierte Handlungsanweisungen (Standard Operation Procedures = SOPs) ein gutes Hilfsmittel sein. SOPs verhelfen zudem zu einer einheitlichen Arbeitsweise bei medizinischem und nicht-medizinischem Personal (beispielsweise Reinigungskräfte, Pfleger) einer Einrichtung und stellen sicher, dass auf allen Ebenen verantwortungsbewusst gearbeitet wird. Hygienepläne sollten für alle relevanten Klinikbereiche bzw. relevanten Tätigkeiten erstellt werden (z.B. Risikoklassifizierung und Regelungen für die Unterbringung und den Umgang mit infektionsverdächtigen Tieren, Regelungen für den rationalen Einsatz von Antibiotika, Händedesinfektion, steriler Verbandswechsel). Zudem sollten Verantwortlichkeiten festgelegt werden, da die Hygiene mit der Bereitschaft aktiv Mitzuwirken (Compliance) steht und fällt. Maßnahmen zur Verbesserung der Mitarbeiter-Compliance und die Dokumentation aller Maßnahmen und Ergebnisse ist sinnvoll.

Händehygiene

Der Händehygiene kommt eine besonders wichtige Bedeutung zu. Generell wird eine hygienische Händedesinfektion bei den folgenden Indikationen empfohlen [10-13]:

- vor Patientenkontakt
- vor aseptischen Tätigkeiten
- nach Kontakt mit potentiell infektiösen Materialien (Sekreten, Exkreten, Blut)
- nach Patientenkontakt
- nach Kontakt mit Oberflächen in unmittelbarer Umgebung des Patienten

Eine chirurgische Händedesinfektion wird vor allen chirurgischen Eingriffen empfohlen. Medizinische Einmalhandschuhe dienen dem persönlichen Arbeitsschutz (Barriere Maßnahme z.B. bei eitrigen Wunden oder Blutentnahmen). Sterile Einmalhandschuhe dienen dem Patientenschutz (Verhinderung der Übertragung von Krankheitserregern). Das Tragen von Einmalhandschuhen ersetzt jedoch nicht die Händedesinfektion.

Flächenhygiene

Neben der Händehygiene ist auch die Flächen- und Raumhygiene, insbesondere in Kliniken, wichtig [14]. Dabei ist zu beachten, dass ohne vorherige gründliche Reinigung eine Desinfektion nicht erfolgreich sein kann. Vor der Desinfektion müssen die gereinigten Flächen wieder trocken sein. Es sollten nur wirksamkeitsgeprüfte Desinfektionsmittel in der richtigen Konzentration und Mindesteinwirkzeit verwenden und dies dann entsprechend den Vorgaben (DVG-gelistete Desinfektionsmittel; www.desinfektion-dvg.de). Schwer zu desinfizierende Stellen sollten ggfs. 2x desinfiziert werden.

Der Desinfektionserfolg sollte regelmäßig kontrolliert werden (Tupfer, Abstrich). Bei Bedarf Wechsel des Desinfektionsmittels oder Kombination zweier komplementär wirkender Desinfektionsmittel (DM kann auch auf Keimfreiheit kontrolliert werden).

Bezüglich der Zeitintervalle für die Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen von Räumen und Stallungen in Kliniken gilt folgende Empfehlung:

- Operations- und Behandlungsbereiche: Zwischendesinfektion nach jeder OP, Grundreinigung und –Desinfektion täglich nach Arbeitsende
- Stallgänge ohne Infektionsverdacht/-gefährdung: mindestens einmal, besser zweimal wöchentlich
- Stallboxen: vor jedem Patientenwechsel in der Box

Zusammenfassung

Zusammenfassend sind ein verantwortungsvoller, rationaler Antibiotikaeinsatz und ein zielgerichtetes Hygienemanagement mit SOP's, zur Infektionsprävention, sowie die ausreichende Aufklärung (Mitarbeiter, Pferdebesitzer) insbesondere bei dem Nachweis von MRE wichtige Maßnahmen der Infektionsprävention sowie der Reduktion Antibiotikaresistenzen und der Verbreitung von MRE. Ein Antibiotikaeinsatz sollte immer kritisch geprüft werden und die Anwendung sachgemäß erfolgen. Zur Infektionsprävention und zum Hygienemanagement gehört die Analyse der hygienisch kritischen Bereiche und die schriftliche Festlegung von Maßnahmen in einem Hygieneplan sowie deren Kontrolle.

Literatur

1. Walther B, Wieler LH, Janßen T, Lübke-Becker A: Hygiene zwischen Stall und High-Tech-OP: Pferdekliniken. *Hygiene & Medizin* 2013, 38:312-315.
 2. Sonis JM, Goehring LS: Nasal Shedding of Equid Herpesvirus Type 1 and Type 4 in Hospitalized, Febrile Horses. *J Equine Vet Sci* 2013, 33(9):756-759.
 3. van Duijken E, Moleman M, van Oldruitenborgh-Oosterbaan MMS, Mullem J, Troelstra A, Fluit AC, van Wamel WJB, Houwers DJ, de Neeling AJ, Wagenaar JA: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in horses and horse personnel: An investigation of several outbreaks. *Veterinary Microbiology* 2010, 141(1-2):96-102.
 4. Weese JS, Rousseau J, Willey BM, Archambault M, McGeer A, Low DE: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in horses at a veterinary teaching hospital: frequency, characterization, and association with clinical disease. *J Vet Intern Med* 2006, 20(1):182-186.
 5. Walther B, Tedin K, Luebke-Becker A: Multidrug-resistant opportunistic pathogens challenging veterinary infection control. *Vet Microbiol* 2017, 200:71-78.
 6. Traub-Dargatz JL, Weese JS, Rousseau JD, Dunowska M, Morley PS, Dargatz DA: Pilot study to evaluate 3 hygiene protocols on the reduction of bacterial load on the hands of veterinary staff performing routine equine physical examinations. *Canadian Veterinary Journal-Revue Veterinaire Canadienne* 2006, 47(7):671-676.
 7. Walther B, Janssen T, Gehlen H, Vincze S, Borchers K, Wieler LH, Barton AK, Lubke-Becker A: [Infection control and hygiene management in equine hospitals]. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 2014, 127(11-12):486-497.
 8. Weese JS: Infection control in veterinary practice; the time is now. *J Small Anim Pract* 2011, 52(10):507-508.
 9. Weese J, Baptiste K, Baverud V, Toutain P-L: Guidelines for Antimicrobial Use in Horses. In: *Guide to Antimicrobial use in Animals*. Edited by Guardabassi L, Jensen L, Kruse H. Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd.; 2008.
 10. Koch-Institut KfKulKbR: Infektionsprävention im Rahmen der Pflege und Behandlung von Patienten mit übertragbaren Krankheiten. *Bundesgesundheitsbl* 2015(58):1151-1170.
 11. Koch-Institut KfKulKbR: Händehygiene in Einrichtungen des Gesundheitswesens. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 2016, 59(9):1189-1220.
 12. (ABAS) AfBA: TRBA 260 „Schutzmaßnahmen bei Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen in der Veterinärmedizin und bei vergleichbaren Tätigkeiten“. *GMBI Nr 52-53* 2017.
 13. Koch-Institut KfKulKbR: Anforderung der Krankenhaushygiene und des Arbeitsschutzes an die Hygienebekleidung und persönliche Schutzausrüstung *Epid Bull* 2007, 1/2007.
- Ruple A, Slovis A, Jones B: What is infection control and biosecurity? In: *Veterinary infection prevention and control*. Edited by Caveney L JB, Ellis K, vol. 1. West Sussex, UK: John Wiley & Sons, Ltd.; 2012: 3- 19.

Kontakt

Prof. Dr. Heidrun Gehlen, Klinik für Pferde, allg. Chirurgie und Radiologie, Freie Universität Berlin
heidrun.gehlen@fu-berlin.de

Keime im Griff - Händedesinfektion ist wichtig, aber oft unterschätzt!

Stephanie Speck¹, Tina Rocktäschel¹, Christiane Cuny², Walter Brehm³, Uwe Truyen¹

¹Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen, Universität Leipzig; ²Robert Koch-Institut, Wernigerode; ³Klinik für Pferde, Universität Leipzig

Einleitung

Die mikrobielle Handflora besteht aus der transienten, zufällig aus der Umgebung auf die Hände gelangten, sowie der residenten oder „Standortflora“. Letztere besteht hauptsächlich aus koagulasenegativen Staphylokokken und Mikrokokken, während die transiente mikrobielle Flora verschiedenste apathogene sowie pathogene Mikroorganismen enthalten kann. In klinischen Einrichtungen spielt die Übertragung von mehrfach gegenüber Antibiotika resistenten Bakterien über die Hände eine besondere Rolle [1]. Die Händedesinfektion ist eine wesentliche Maßnahme zur Reduktion der mikrobiellen Handflora und trägt zur Verhinderung der Übertragung von Mikroorganismen sowie zur Vermeidung von postoperativen Wundinfektionen bei. Obwohl dieses allgemein bekannt ist, scheint das Wissen um das korrekte Vorgehen bei der Durchführung der Händedesinfektion eher dürftig zu sein [2]. Verglichen mit der Humanmedizin gibt es bisher wenige Studien, die sich mit der Durchführung der Händedesinfektion in der Veterinärmedizin beschäftigen und ihre Wirksamkeit demonstrieren [3-8]. Das Ziel der hier vorgestellten Studie war, die keimreduzierende Wirkung der chirurgischen Händedesinfektion in der täglichen Routine mit einem standardisierten Durchführungsprotokoll zu vergleichen. Hauptaugenmerk lag dabei auf dem Nachweis und der Reduktion von Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA).

Material und Methoden

Insgesamt waren 45 Teilnehmer (3 Chirurgen, 42 Assistenten davon 34 Studenten) an der Studie beteiligt, die in 2 Phasen unterteilt war: Phase 1 „Routineprotokoll“, Phase 2 „standardisiertes Protokoll“. In Phase 1 wurde die Durchführung der Routine-Händedesinfektion beobachtet und dokumentiert, sowie die Zeit für die einzelnen Schritte festgehalten. Das standardisierte Protokoll in Phase 2 bestand aus 1 min Händewaschen und 3 min Händedesinfektion. Während dieser 3 min wurde eine definiert vorgegebene Abfolge durchlaufen und so oft Desinfektionsmittel nachdosiert, dass die Hände über den gesamten Zeitraum feucht benetzt waren. Während der gesamten Studie wurde zu Beginn der OP-Vorbereitung abgefragt, welche Tätigkeiten die Teilnehmer unmittelbar vor dem Betreten des OP ausgeführt hatten. In Phase 1 wurden 46 chirurgische Händedesinfektionen mit einem alkoholischen Präparat durchgeführt; 6x wurde ein Jod-Alkohol Produkt verwendet. In Phase 2 kam das alkoholische Präparat 41x zum Einsatz während Jod-Alkohol 7x verwendet wurde. Die Nutzung der beiden Präparate basierte auf persönlicher Präferenz. Für das Waschen der Hände wurde eine pH-neutrale Waschlotion verwendet. Die Lebendkeimzahl wurde separat für die rechte und linke Hand bestimmt: jeweils vor dem Händewaschen, nach dem Händewaschen, nach der Desinfektion und nach Beendigung der OP. Letzteres wurde nur durchgeführt, wenn während der OP keine Handschuhperforation auftrat. Bei MRSA-verdächtigen Kolonien wurden diese subkultiviert und weiterführend charakterisiert (molekularbiologischer Nachweis des *mecA*-Gens, Antibiotikaempfindlichkeitstest, *spa*-Typisierung).

Ergebnisse

Phase 1 zeigte deutlich, dass die Durchführung der chirurgischen Händedesinfektion sowohl zwischen den einzelnen Teilnehmern als auch von einer Beprobung zur nächsten sehr

unterschiedlich war. Die durchschnittliche Zeit für das Händewaschen lag zwischen $230 \text{ s} \pm 74 \text{ s}$ (Chirurgen) und $298 \text{ s} \pm 107 \text{ s}$ (Assistenten). Die Abfolge von Einseifen und Abspülen der Hände wurde im Maximum 9x wiederholt. Die durchschnittliche Zeit für die Händedesinfektion lag zwischen $133 \text{ s} \pm 47 \text{ s}$ (Chirurgen) und $158 \text{ s} \pm 58 \text{ s}$ (Assistenten). Die verwendete Menge an Desinfektionsmittel schwankte zwischen 4 ml und 48 ml. In Phase 2 wurden 12 ml (kleine Hände) bzw. 18 ml (große Hände) Desinfektionsmittel verwendet. Generell lag die Lebendkeimzahl vor dem Händewaschen zwischen 3×10^2 und $>10^5$ Kolonie-bildenden Einheiten (KbE)/ml. Die höchste \log_{10} -Keimreduktion (LR) wurde mit dem alkoholischen Händedesinfektionsmittel erreicht: LR=2,5 (Phase 1) sowie LR = 3,3 (Phase 2). Insgesamt wurden 15 MRSA-Isolate gewonnen. Diese stammten von insgesamt 9 Teilnehmern (7 Studenten, 2 Chirurgen) wobei fast die Hälfte der Isolate von einer Person stammte, aber an verschiedenen Tagen gewonnen wurde. Vorberichtlich waren alle MRSA-Träger zuvor an Patienten oder dem Klinik-Computer tätig. Während in Phase 1 auch nach der Händedesinfektion MRSA isoliert wurden, waren nach der Anwendung des standardisierten Protokolls in Phase 2 MRSA nach der Desinfektion nicht nachweisbar. Alle 15 MRSA-Isolate konnten dem Pferde-spezifischen CC398 Subklon zugeordnet werden, der sich durch Resistenz gegenüber Gentamicin auszeichnet.

Zusammenfassung und Schlussfolgerung

Hände können Vehikel für Krankheitserreger, einschließlich multiresistenter Bakterien, sein. Ziel der tierärztlichen Infektionsprophylaxe ist, die Übertragung dieser Keime auf Patienten zu unterbinden und somit Infektionen und nachfolgende antimikrobielle Therapien zu vermeiden. MRSA waren bei 20% unserer Studienteilnehmer auf den Händen nachweisbar. Alle berichteten, dass sie zuvor an Patienten oder an einem Computer im Klinikbereich tätig waren. Dieses zeigt, dass in einer Klinik vielfältige Kontaminationsquellen existieren. Die Händedesinfektion dient der schnellen und maximal möglichen Reduktion der Handflora. Alkoholische Mittel sind hierzu sehr gut geeignet, da ihre antimikrobielle Wirkung stark ist und schnell eintritt. Darüber hinaus werden sie meistens gerne angewendet. Die vorliegende Studie hat gezeigt, dass ein definiertes Vorgehen bei der Händedesinfektion ihre Wirksamkeit garantiert bzw. erhöht. Vor allem im Hinblick auf die Ausbildung von Studenten, tiermedizinischen Fachangestellten und Tierpflegern ist eine gebildete oder schriftliche Anleitung wichtig, um die Regeln und Maßnahmen der Händehygiene kennenzulernen und einzuhalten.

Literatur

1. Rotter ML. Desinfektion der Hände. In: Kramer A, Assadian O, Herausgeber. Wallhäußers Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Antiseptik und Konservierung. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG; 2008. S. 146-161.
2. Verwilghen D. Surgical site infections: What do we know? *Equine Vet J.* 2015;47(6):753–55.
3. Biermann NM, McClure JT, Sanchez J, Doyle AJ. Observational study on the occurrence of surgical glove perforation and associated risk factors in large animal surgery. *Vet Surg.* 2018; 47(2):212-18.
4. Elce YA, Laverty S, Almeida da Silveira E, Piat P, Trencart P, Ruzickova P et al. Frequency of Undetected Glove Perforation and Associated Risk Factors in Equine Surgery. *Vet Surg.* 2016; 45(8):1066-70.
5. Traub-Dargatz JL, Weese JS, Rousseau JD, Dunowska M, Morley PS, Dargatz DA. Pilot study to evaluate 3 hygiene protocols on the reduction of bacterial load on the hands of veterinary staff performing routine equine physical examinations. *Can Vet J.* 2006; 47(7):671-76.
6. Verwilghen DR, Mainil J, Mastrocicco E, Hamaide A, Detilleux J, van Galen G et al. Surgical hand asepsis in veterinary practice: Evaluation of soap scrubs and alcohol-based rub techniques. *Vet J.* 2011; 190(3):372-77.
7. Chou PY, Doyle AJ, Arai S, Burke PJ, Bailey TR. Antibacterial Efficacy of Several Surgical Hand Preparation Products Used by Veterinary Students. *Vet Surg.* 2016;45(4):515-22.

8. da Silveira EA, Bubeck KA, Batista ER, Piat P, Lavery S, Beauchamp G, et al. Comparison of an alcohol-based hand rub and water-based chlorhexidine gluconate scrub technique for hand antisepsis prior to elective surgery in horses. *Can Vet J.* 2016; 57(2):164-68.

Kontakt

Dr. Stephanie Speck, Institut Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen, Universität Leipzig
stephanie.speck@vetmed.uni-leipzig.de

Diagnostic approach to the ataxic horse

Amy L. Johnson

Department of Clinical Studies – New Bolton Center, University of Pennsylvania School of Veterinary Medicine, USA

Initial assessment and general approach

Ataxia is the most common neurologic problem assessed by practitioners. There are three types of ataxia: cerebellar, vestibular, and general proprioceptive (also known as spinal). Most ataxic horses have general proprioceptive ataxia due to spinal cord problems, usually within C1-C6 spinal cord segments. The most common spinal cord disease of horses is cervical vertebral stenotic myelopathy (CVSM). Infectious spinal cord diseases, such as equine protozoal myeloencephalitis (EPM), equine herpes virus 1 (EHV-1) myeloencephalopathy, or West Nile Virus (WNV) myeloencephalitis, are less frequently diagnosed. Horses that are negative for CVSM and infectious causes often have a final diagnosis of equine degenerative myeloencephalopathy (EDM), which can only be definitively diagnosed post-mortem.

When faced with an ataxic horse, the author's general diagnostic plan is as follows. First, a complete neurologic evaluation is performed. Confirmation of ataxia, detection of any additional neurologic signs, and correct neurolocalization is essential for accurate diagnosis. The majority of ataxic horses in the author's practice show signs consistent with cervical spinal cord disease, and cervical radiography is performed as the first diagnostic test. If radiographs reveal evidence for CVSM, myelography is recommended. Spinal fluid is routinely collected during myelography and can be assessed cytologically as well as submitted with serum (or other) samples for infectious disease testing. If radiographs are normal or mildly abnormal, standing cerebrospinal fluid (CSF) collection is offered. Using sedation and either lumbosacral or ultrasound-guided atlantoaxial (C1-C2) approach, CSF can be obtained. If infectious disease test results are positive, treatment is initiated. If infectious disease test results are negative, myelography is considered.

The diagnostic algorithm described above works in a referral setting, but what should the ambulatory veterinarian do? A frank discussion with the client regarding diagnostic limitations in the field and costs/benefits/risks of referral versus care on the farm is recommended. Cervical radiographs performed with a portable machine can be diagnostic but, due to equipment limitations, are often of lower quality than those performed with a fixed overhead system at a referral hospital. Myelography is rarely performed in field settings. Serology for infectious diseases such as Lyme neuroborreliosis often has a high false positive rate (and a low positive predictive value). Treatment trials are not without cost; initial workup at a referral center might lead to lower total cost than months of treatment trials on the farm. Sometimes referral is not an option, and the veterinarian must make decisions based on careful neurologic examination, regional disease prevalence, and available test results.

CVSM

Most commonly, horses with cervical spinal cord disease due to CVSM have general proprioceptive deficits in all four limbs, with the pelvic limbs more obviously affected. A long-strided spastic gait characteristic of upper motor neuron disease is generally seen in all four limbs, though caudal cervical disease can cause lower motor neuron signs, such as a short choppy gait with buckling and muscle atrophy, in the thoracic limbs. Some horses have overt neck pain, evidenced by abnormal posture or movement of the neck at rest or during exercise. Horses with less severe disease might show more subtle signs of poor performance, including difficulty with bending or lateral

work (often worse in one direction), behavior change (bucking, bolting, rearing, stopping at fences, reluctance to bring head and neck up into a frame, reluctance to go forward), or thoracic limb lameness.

Radiographic diagnosis of CVSM is usually achieved by looking for morphologic indicators as well as performing more objective minimum sagittal ratio measurements. Radiographic indicators include vertebral malalignment, dorsal projection of the caudal physis, osteoarthritis and proliferation of the articular processes, osteochondrotic changes, and caudal extension of the dorsocaudal vertebral arch. Both intra- and intervertebral minimum sagittal ratios have been described (1); in general, the more ratios ≤ 0.5 , the more likely the horse has CVSM. Myelography is often considered the most accurate antemortem test for CVSM, but in the future might be supplanted by CT myelography or MRI.

Surgical treatment of CVSM is beyond the scope of this talk but reportedly leads to improvement in approximately 80 % of horses. Medical treatment using rest and anti-inflammatory drugs is palliative but not curative.

Infectious diseases

Bacteria, viruses, fungi, protozoa, and helminths can all cause spinal cord disease in the horse. In the author's US practice, EPM caused by *Sarcocystis neurona* is the most common infectious neurologic disease, and horses are tested routinely. Lyme neuroborreliosis rarely causes signs of just spinal ataxia, but demand for the test is strong. Horses with acute signs +/- fever might be tested for EHV-1 and WNV depending on clinical signs and season.

EHV-1

EHV-1 is a ubiquitous α -herpesvirus that is primarily a respiratory pathogen but can also cause abortion, neonatal death, and neurologic disease in individual horses or outbreak situations. Disease is spread via aerosolized respiratory secretions or direct contact with individual horses or fomites. Typical clinical signs of the neurologic form include fever, paresis, ataxia (usually worse in pelvic limbs than thoracic limbs), urine dribbling, fecal retention, decreased tail and anal tone, and recumbency.

Polymerase chain reaction (PCR) is the most rapid and sensitive test for antemortem diagnosis of EHV-1 and can distinguish neuropathogenic from non-neuropathogenic strains, both of which can cause outbreaks of neurologic disease. Either whole blood (buffy coat leukocytes) or nasal swabs can be used for PCR testing; submitting both samples yields maximum sensitivity.

Treatment of EHV-1 myeloencephalopathy (EHM) is primarily supportive. Continuous or intermittent urinary catheterization may be required, as well as antimicrobial treatment to prevent or treat urinary tract infections. Anti-inflammatory medications such as NSAIDs or steroids are commonly used. The clinical benefit of antithrombotic medications (aspirin, pentoxifylline, heparin) is uncertain; recent ex vivo work supports a potential benefit for heparin (2). Antiviral drugs might be beneficial for EHM treatment. A treatment protocol of 27 mg/kg valacyclovir q 8 h for 2 days (loading dose) then 18 mg/kg q 12 h (maintenance dose) has been recommended for 1-2 weeks in the face of an outbreak (3).

Prompt identification of potential EHM cases and outbreak mitigation is essential but beyond the scope of this talk.

WNV

West Nile virus is a flavivirus transmitted by mosquitoes. Infected horses can be subclinical or clinical, with clinical signs including fever, muscle fasciculations or tremors, paraparesis, tetraparesis, ataxia, recumbency, and intracranial signs such as behavior changes. WNV causes more prominent signs of spinal cord disease than the other viral encephalitides, often with profound weakness,

demonstrated by muscle tremors, collapse, and recumbency. Cases usually occur from mid-summer to fall. Antemortem diagnosis is best accomplished with an IgM capture ELISA on serum (or CSF). Treatment is primarily supportive; hyperimmune plasma might be beneficial.

EDM

EDM, as the name implies, is a degenerative spinal cord and brainstem disorder that is influenced by genetics and vitamin E status. In the classic description of this disease, clinical signs develop in young horses, often less than one year of age, and are characterized by progressive symmetric tetra-ataxia and paresis. In the author's practice, the "classic" form of EDM is rarely diagnosed and instead horses with this disorder are often middle-aged (6-12 years) warmbloods. These horses usually have mild ataxia (grade 1-2 on the modified Mayhew scale) consistent with cervical spinal cord disease. Behavior changes are frequently recognized by the owner or trainer and can range from performance issues (bucking, bolting, refusing jumps) to progressive dullness, loss of "personality," or aggression toward people or horses.

EDM is a tentative diagnosis in the living horse and can only be made by documenting clinical signs consistent with the disease and excluding other possible diseases like CVSM and infectious diseases through appropriate diagnostic testing.

Definitive diagnosis requires histopathology. Brainstem changes are often more prominent than spinal cord changes, with loss of neuronal cell bodies and spheroid development, most notable in the lateral cuneate nuclei.

References

1. Hahn CN, Handel I, Green SL, et al. Assessment of the utility of using intra- and intervertebral minimum sagittal diameter ratios in the diagnosis of cervical vertebral malformation in horses. *Vet Radiol Ultrasound*. 2008;49:1-6.
2. Stokol T, Serpa PBS, Zahid MN, et al. Unfractionated and low-molecular-weight heparin and the phosphodiesterase inhibitors, IBMX and cilostazol, block ex vivo equid herpesvirus type-1-induced platelet activation. *Front Vet Sci*. 2016;17;3:99. eCollection 2016.
3. Maxwell LK, Bentz BG, Bourne DWA, et al. Pharmacokinetics of valacyclovir in the adult horse. *J Vet Pharmacol Therap*. 2008;31:312-20.

Contact address

Amy L. Johnson, Associate Professor of Large Animal Medicine and Neurology, New Bolton Center, University of Pennsylvania School of Veterinary Medicine (USA)
amyjohn@vet.upenn.edu

Borna - Verlaufsformen bei Pferd und Mensch

Kaspar Matiasek

Sektion für Klinische & Vergleichende Neuropathologie, Zentrum für Klinische Tiermedizin, LMU München

Unter den Tiermedizinern, Virologen und zunehmend Humanmedizinern hat die sächsische Kleinstadt Borna durch die gleichnamige Virusenzephalitis traurige Berühmtheit erlangt. Diese hielt im Jahr 1894 einen zumeist letalen Seuchenzug durch die dort ansässigen Kavalleriepferde und wurde von Ostertag damals als die verlustreichste Pferdeseuche in der Region angesehen (1, 2). Im Jahre 1926 gelang es die Bornaschen Krankheit auf ein Virus zurückzuführen, das heute als Borna disease virus (BoDV-1/2) und Prototyp der Virusfamilie *Bornaviridae* geläufig ist (1).

Bornaviren gehören zur Gruppe der oftmals neurotrophen einzelsträngigen RNA-Viren mononegavirales und sind in Süddeutschland, Österreich, der Schweiz und Liechtenstein als einer der wichtigsten Auslöser von Enzephalomyelitiden bei Pferd, Schaf, aber auch Neuweltkameliden, anzutreffen. Auch wenn die Seroprävalenz von Antikörpern gegen das Virus auf eine nahezu flächendeckende Verbreitung hinweist, tritt die Erkrankung bei diesen Tieren regional geclustert und mit definierten jahreszeitlichen Schwankungen auf (3), die mit der Verbreitung und Aktivität des Reservoirwirtes Spitzmaus zusammenzuhängen scheinen (4).

Im Gegensatz zum Reservoirwirt verlaufen die klinischen Infektionen bei End- oder akzidentiellen Wirten in der Regel tödlich. Nach gängiger Meinung gelangt das Virus aus Spitzmausausscheidungen vorwiegend über die Nasenhöhle zum Riechepithel der Endwirte. Dort infiziert es sowohl Rezeptorzellen des Neuroepithels als auch die olfaktorischen Hüllzellen (Olfactory Ensheathing Cells) und gelangt intrazellulär durch das Siebbein in das tiefere Hirnparenchym (5). Hier hat es bei unseren Haussäugetieren eine besondere Vorliebe zum limbischen System, insbesondere zum Hippocampus, wo die höchste Viruslast zu verzeichnen ist. Andere Prädispositionsstellen sind die Basalkerne, Hirnstamm und Neurohypophyse (6).

In der immunologisch unerkannten Infektionsphase beeinträchtigen die Bornaviren verschiedene zelluläre Funktionen der infizierten Neuronen und Astroglia, was zum klinischen Bild der Prodromalphase mit Verhaltensänderungen und Allgemeinsymptomen beiträgt. Das Einsetzen komplexer Großhirn- und Hirnstammdefizite nach 4-12 Wochen korreliert dagegen vor allem mit der antiviralen T-Zellreaktion, die das Nervengewebe stark schädigt ohne dabei die Infektion erfolgreich einzudämmen (7,8). Das Fortschreiten der Entzündung führt unbeeinflusst in der Regel innerhalb von 4 Wochen nach Eintreten der neurologischen Symptome zum Tode des Tieres (9).

Erst vor wenigen Jahren konnte man tatsächlich nachweisen, dass das klassische Bornavirus auch letale Enzephalomyelitiden beim Menschen auslösen kann (10,11, 12). Dabei ist momentan noch unklar wie sich Menschen auf natürliche infizieren können. Der Kontakt zu Pferden scheint jedenfalls keinen Risikofaktor darzustellen. Als einzige horizontale Infektionsroute sind Organtransplantate mit infizierten Nervenendigungen nachgewiesen (11).

Neben grippeähnlichen Symptomen, Kopfschmerzen und Unruhe, zeigten einige betroffene Patienten bereits vor der ZNS-Beteiligung eine Guillain-Barré-ähnliche schlaffe Gliedmaßenlähmung, die letztlich auf eine Infektion und Entzündung der peripheren Nerven zurückzuführen war (10,11,13). Das räumt dem aufsteigenden neurogenen Infektionsweg beim Menschen eine größere Bedeutung bei.

Im Hirn angelangt führt das Virus zu einer fulminanten und oft nekrotisierenden Enzephalitis, wobei Neuronen und Gliazellen gleichsam infiziert sind. Im Vergleich zum Pferd ist die Virusverteilung wesentlich diffuser. Das limbische System ist nicht deutlich stärker betroffen als andere Zonen grauer Substanz. Dagegen weisen einige Patienten eine verstärkte Betonung der Basalkerne auf (13). Ohne radikale Therapie mit antiviralen Substanzen verläuft die Infektion tödlich (10,11).

Interessanter Weise überlappen die Regionen mit Bornascher Krankheit beim Menschen stark mit den Endemiegebieten bei Pferden. Damit stellen Pferde weniger eine Infektionsquelle als vielmehr einen Indikator für das regionale Risiko humanpathogener Bornavirusinfektionen dar (12).

Literatur

1. Danner K. Neues über das Borna-Virus. *Fortschr Veterinärmed.* 1976;25(11):227-34.
2. Seifried O, Gylstorff-Sassenhoff I. Die Bornasche Krankheit der Pferde. In: Lubarsch O, Henke F, Rössle R, Herausgeber. *Handbuch der Speziellen Pathologischen Anatomie und Histologie.* Dreizehnter Band: Nervensystem. Scholz, W (Hrsg). Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer Verlag; 1958. S. 451-66.
3. Herzog S, Frese K, Richt JA, Rott R. Ein Beitrag zur Epizootologie der Bornaschen Krankheit beim Pferd. *Wien Tierärztl Mschr.* 1994(81);374-9.
4. Hilbe M, Herrsche R, Kolodziejek J, Nowotny N, Zlinszky K, Ehrensperger F. Shrews as reservoir hosts of borna disease virus. *Emerg Infect Dis.* 2006; 12(4):675-7.
5. Kupke A, Becker S, Wewetzer K, Ahlemeyer B, Eickmann M, Herden C. Intranasal Borna Disease Virus (BoDV-1) infection: insights into initial steps and potential contagiousity. *Int J Mol Sci.* 2019;20(6). pii: E1318. doi: 10.3390/ijms2006131
6. Bilzer T, Grabner A, Stitz L. Immunopathology of Borna disease in the horse: clinical, virological and neuropathologic findings. *Tierarztl Prax;* 24(6):567-76.
7. Bilzer T, Stitz L. Immune-mediated brain atrophy – CD8+ T cells contribute to tissue destruction during Borna disease. *J Immunol.* 1994;153(2):818-23.
8. Tizard I, Ball J, Stoica G, Payne S. The pathogenesis of bornaviral diseases in mammals. *Anim Health Res Rev.* 2016;17(2):92-109.
9. Herden C, Briese T, Lipkin WI, Richt JA. Bornaviridae. In Knipe, DM, Howley PM, Herausgeber. *Fields Virology.* Wolters Kluwer: Alphen aan den Rijn, The Netherlands, 2013; S. 1124–50.
10. Korn K, Coras R, Bobinger T, Herzog SM, Lücking H, Stöhr R, et al. Fatal Encephalitis Associated with Borna Disease Virus 1. *New Eng J Med.* 2018;379(14): 1375-7.
11. Schlottau K, Forth L, Angstwurm K, Höper D, Zecher D, Liesche F, et al. Fatal Encephalitic Borna Disease Virus 1 in Solid-Organ Transplant Recipients. *New Eng J Med.* 2018; 379(14):1377-9.
12. Rubbenstroth D, Schlottau K, Schwemmler M, Rissland J, Beer M. Human bornavirus research: Back on track! *PLoS Pathog.* 2019 Aug 1; 15(8):e1007873. doi: 10.1371/journal.ppat.1007873.
13. Liesche F, Ruf V, Zoubaa S, Kaletka G, Rosati M, Rubbenstroth D, et al. The neuropathology of fatal encephalomyelitis in human Borna virus infection. *Acta Neuropathologica* 2019; doi: 10.1007/s00401-019-02047-3. [Epub ahead of print]

Kontakt

Prof. Dr. Kaspar Matiassek, Sektion für Klinische & Vergleichende Neuropathologie, Zentrum für Klinische Tiermedizin, LMU München
Matiassek@patho.vetmed.uni-muenchen.de

Die chronisch-persistierende Infektion des EHV-1

Lutz S. Göhring, Kim Giessler, Susanna Samoilowa

Zentrum für Klinische Tiermedizin – Klinik für Pferde, Tierärztliche Fakultät, Ludwig-Maximilians-Universität, München

Einmal Herpes, immer Herpes! Diese Aussage trifft sehr wahrscheinlich auf alle Herpesviren, querbeet durch Spezies und Phyla, bei der Infektion ihrer Wirte zu. Man unterscheidet den akuten, lytischen Verlauf von der chronischen Phase der Latenz. Während der lytischen Phase repliziert sich das Virus und sein gesamtes Genom wird kopiert, um ein vollwertiges Virion zu produzieren, welches in der Lage ist neue Zellen und Wirte zu infizieren. Das Gesamtgenom besteht bei Herpesviren der Gruppe alphaherpesvirinae aus einem Immediate Early-Abschnitt (IE-Gen), einem Early- (E-Gen) und einem Late- Abschnitt (L-Gen). Die Latenz ist die stille Ruhephase einer persistierenden Infektion. Hierfür werden einige wenige Zellen infiziert, in denen sich ein paar Kopien der viralen DNA aufhalten, sich aber nicht replizieren. Nur das IE-Gen wird bearbeitet und in mRNA transkribiert.

Als Rückzugsgebiet oder –gewebe für eine Latenz werden in der Regel Zellen des Immun- (Lymphozyten, Monozyten, Vorläuferzellen) oder Nervensystems rekrutiert.

Beim Equiden Herpesvirus Typ 1 (EHV-1) konkludierte man bereits in den 1990er Jahren, dass Orte der Latenz sowohl die regionalen Lymphknoten der oberen Atemwege, wie auch das Ganglion trigeminale sind. Diese Gewebe galten dogmatisch als die einzigen (latenten) Aufenthaltsorte des EHV-1. Bei Varicella Zoster Virus (VZV)-Infektionen beim Menschen (Windpocken, Gürtelrose), wie EHV-1 auch ein Alphaherpesvirus, breitet sich das Virus während der akuten Infektion über die Virämie im ganzen Körper aus. Latentes VZV kann deshalb in den unterschiedlichsten neuronalen Strukturen gefunden werden. Auch bei EHV-1 kommt es in einem Großteil der infizierten Pferde zur Virämie.

Unser Ziel war es zu überprüfen, ob wir auch in anderen neuronalen oder lymphatischen Strukturen das Virus bei vormalig EHV-1 infizierten Pferden finden. Wir erhielten Gewebe aus 2 Infektionsstudien mit EHV-1, wobei Pferde 30 oder 70 Tage nach Infektion euthanasiert wurden. Wir erhielten Proben von Lymphgewebe der oberen, tiefen Atemwege, der Bauchhöhle (Lnn. mesenteriales, Milz), sowie neurale Strukturen wie Ganglion trigeminale, mehrere (para)sympathische Ganglien, Dorsal Root Ganglion (DRG), sowie der Grenzstrang. Alle Gewebe wurden histologisch untersucht. Die Viruslast wurde mittels quantitativem PCR bestimmt, und alle Gewebe wurden auf L-Gene mRNA (RT PCR) untersucht. Virus-Genom positive Proben wurden mittels Immunhistochemie IHC (Antikörper-Nachweis von EHV-1 -(Hüllen)Proteinen) untersucht, sowie mittels *in situ* Hybridisierung (nur neurales Gewebe).

Eine Vielzahl der Gewebe, neural wie auch lymphatisch, enthielt virale DNA (PCR). In keiner der Proben konnte mRNA des L-Gens (RT PCR), noch Virusproteine mittels IHC nachgewiesen werden. In vielen Geweben (auch in DNA/mRNA negativen Geweben) konnte eine geringe bis mittelgradige Einwanderung von Lymphozyten/ Monozyten nachgewiesen werden. Die *in situ* Hybridisierung wies virale DNA sowohl in den Nervenzellen eines Ganglions, wie auch in deren Stützzellen (Satellitellen) auf, obwohl hier nicht mit letzter Sicherheit gesagt werden kann, ob es sich nicht doch um einzelne Lymphozyten/Monozyten handelt.

Die Bedeutung dieser Befunde einer weitaus größeren Ausbreitung von EHV-1 während der chronisch-persistierende Phase, ist im Moment nicht deutlich. Die chronische Phase einer EHV-1 Infektion ähnelt jedoch der VZV-Infektion beim Menschen mehr, als einer Herpes simplex Virus-1 Infektion, wovon seither ausgegangen wurde.

Diese Arbeit wurde von der Grayson Jockey Club Research Foundation in Lexington, Kentucky, USA unterstützt.

Literatur

1. Susanna Samoilowa. Characterizing and Localizing EHV-1. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München (2019).
2. Depledge DP, Ouwendijk WJD, Sadaoka T. (2019) a spliced latency-associated VZV transcript maps antisense to the viral transactivator gene 61. Nature Communications. DOI: 10.1038/s41467-018-03569-2

Kontakt

Prof. Dr. Lutz Göhring, Zentrum für Klinische Tiermedizin – Klinik für Pferde, Tierärztliche Fakultät, Ludwig-Maximilians-Universität, München
goehring@pferd.vetmed.uni-muenchen.de

Untersuchungen zur Epidemiologie der EHV-1 Infektionen

Eva Klouth, Lutz S. Göhring

Klinik für Pferde der Ludwig-Maximilians-Universität München

Untersuchungen

Das EHV-1-Virus ist in Deutschland häufig für Infektionen der oberen Atemwege verantwortlich. Erkrankte Pferde haben meistens Fieber und oft auch Nasenausfluss, selten Husten. Teilweise werden Ödeme an Brust, Bauch oder Gliedmaßen beobachtet. Bei trächtigen Stuten kann das Virus einen Abort auslösen und nicht zuletzt kann es zu neurologischen Ausfallerscheinungen, wie Schweifatonie, Harnblasenlähmung und Ataxie bis hin zum Festliegen führen (1). Die neurologische Verlaufsform hat mit Abstand die höchste Mortalität, weil festliegende Pferde oft wegen ausbleibender Besserung euthanasiert werden müssen.

Mögliche Prädispositionen bei bestimmten Rassen, Altersgruppen oder Geschlechtern wurden schon von mehreren Autoren vermutet (2; 3). Um Prädispositionen einiger Pferderassen, Altersklassen oder besondere Anfälligkeit eines Geschlechts für die neurologische Verlaufsform (Equide Herpes Myeloencephalopathie, EHM) herauszufinden, wurden über einen Zeitraum von mehreren Jahren vergangene und aktuelle Ausbrüche untersucht. Aus retrospektiv verfügbaren Daten, Interviews mit Stallbesitzern und Tierärzten und der Umfrage mittels Fragebögen unter Pferdebesitzern in Höfen mit EHV-1-Ausbrüchen, wurden ausführliche Daten zu den neurologischen und nicht-neurologischen, aber infizierten Pferden, Informationen über die äußeren Umstände des Ausbruchs, den Verlauf des Ausbruchs und die ergriffenen Maßnahmen gesammelt. Die Ergebnisse sind zum Teil bereits ausgewertet.

Ergebnisse

Beispielhaft für die gefundenen Prädispositionen ist ein großer Ausbruch in Süddeutschland in einem Betrieb mit über 140 Pferden, in dem die Pferde tagsüber alle gemeinsam auf einer Weide gehalten werden, mit einer großen, gemeinsamen Tränke. Nachts sind die Pferde, grob nach Größe, bzw. Rassen sortiert, in großen Laufställen untergebracht und teilen sich ebenfalls jeweils eine Tränke.

Der Ausbruch war im Winter 2016/17. Von den 143 Pferden zeigten 33 neurologische Symptome (23%), 10 überlebten den Ausbruch nicht (7%).

Es gab zum Zeitpunkt des Ausbruchs Shetland Ponys, Minishettys, Isländer, einige Ponys ohne Rassenkennung, Welshponys, Fjordpferde, Haflinger, Quarter Horses, Kaltblüter, Araber, Araber-Warmblut-Mischlinge und Warmblüter. Die Haflinger, Quarter Horses und Kaltblüter waren stark unterrepräsentiert, sodass man bei ihnen keine Rückschlüsse auf die Anfälligkeit für neurologische Symptome ziehen kann, aber aus der restlichen Population wurden bei einigen Pferden deutlich mehr EHM-Fälle gesehen, als bei den anderen. Die am meisten gefährdete Rasse in diesem Ausbruch war das Fjordpferd mit einer Odds Ratio (OR, Risiko auf Vorkommen) von 4,85 (95% CI 2,05-11,49), gefolgt von den Warmblütern mit einem Odds Ratio von 3,24 (95% CI 1,30-8,08). Die am wenigsten gefährdeten Rassen in diesem Ausbruch waren die Shetland Ponys/Minishettys (OR 0,14; 95% CI 0,02-0,84) und die Welshponys (OR 0,13; 95% CI 0,02-0,78). Besonders interessant war auch, dass die reinrassig gezogenen Araberpferde eine sehr geringe Anfälligkeit zeigten (OR 0,28; 95% CI 0,04-2,02), während die Araber-Warmblut-Mischlinge wieder deutlich mehr gefährdet waren (OR 2,63; 95% CI 0,80-8,64). Diese Beobachtung konnte aber keine statistische Signifikanz erreichen, wahrscheinlich wegen unzureichender Gruppengröße.

Auch das Alter betrachtend konnten wir Prädispositionen finden. In diesem Ausbruch war die Altersgruppe der 15-19-jährigen Pferde mit Abstand am meisten gefährdet, neurologische Symptome zu entwickeln (OR 3,13; 95% CI 1,30-7,52).

Das Geschlecht schien hier keinen Einfluss zu haben. Männliche Pferde zeigten etwas häufiger neurologische Symptome als weibliche, der Unterschied war aber nicht signifikant und andere Autoren haben schon gegenteilige Beobachtungen gemacht.

Literatur

1. Pusterla N, Hussey GS. Equine herpesvirus 1 myeloencephalopathy. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 2014;30(3):489-506.
2. Goehring LS, van Winden SC, Van Maanen C, van Oldruitenborgh-Oosterbaan MMS. Equine herpesvirus type 1-associated myeloencephalopathy in the Netherlands: a four-year retrospective study (1999–2003). *Journal of veterinary internal medicine.* 2006;20(3):601-7.
3. Allen GP. Risk factors for development of neurologic disease after experimental exposure to equine herpesvirus-1 in horses. *American journal of veterinary research.* 2008;69(12):1595-600.

Kontakt

Eva Klouth, Klinik für Pferde der Ludwig-Maximilians-Universität, München
eva.klouth@pferd.vetmed.uni-muenchen.de

Fact or fiction? - Equine Lyme Neuroborreliosis

Amy L. Johnson

Department of Clinical Studies – New Bolton Center, University of Pennsylvania School of Veterinary Medicine, USA

Lyme disease

Horses are frequently infected with *Borrelia burgdorferi*, the gram-negative spirochete that causes Lyme disease. One of the major problems in diagnosing Lyme disease is that many horses have been exposed to *B. burgdorferi* but do not show clinical signs. Exposure occurs when the horse is bitten by an *Ixodes* spp. tick carrying *B. burgdorferi*, and the organism infects the horse. Some horses likely eliminate the infection on their own, some horses likely become chronically infected but asymptomatic, and some horses are chronically infected and symptomatic. Documented syndromes attributed to *B. burgdorferi* infection in horses include neuroborreliosis, uveitis, and cutaneous pseudolymphoma (1-6). Many practitioners attribute other clinical signs, such as sporadic lameness, arthritis, and muscle soreness, to infection. However, these syndromes are not as well-documented.

Diagnosis

Diagnosis of Lyme disease is complicated. Positive serology is not sufficient for definitive diagnosis, even in the presence of compatible clinical signs. Positive serology in the absence of compelling clinical signs has very poor predictive value for disease. Suggestive clinical signs depend on the organ system involved. Neurologic sequelae to infection might include behavioral changes (especially hyperesthesia or hyper-reactivity), gait abnormalities, cranial nerve deficits, neck stiffness, muscle atrophy, and muscle tremors or fasciculations. Additional systemic signs might occur concurrently, including weight loss, uveitis, cardiac arrhythmias, and dermal masses at the sites of tick bites (pseudolymphoma).

Antemortem diagnosis of Lyme disease is best achieved by fulfilling several criteria, which include potential *B. burgdorferi* exposure (via residence in or travel to an endemic area); presence of neurologic signs, uveitis, or cutaneous skin masses at the site of tick bites; diagnostic testing to rule out other potential diseases; documentation of abnormal cerebrospinal fluid (CSF), ocular fluids, or dermal histopathology; and identification of the organism or immunologic evidence of infection (7). Cytological analysis of CSF is strongly recommended for horses with suspected neuroborreliosis; results are often abnormal with neutrophilic or lymphocytic pleocytosis and increased total protein concentration (4). Although identification of the organism (via culture, immunohistochemistry, or PCR) in tissue, CSF, or ocular samples from the patient provides strong evidence for active infection, positive results are uncommon in horses with confirmed neuroborreliosis, and immunologic testing remains the mainstay of laboratory diagnosis.

Commercially available serologic tests for *B. burgdorferi* in the USA include ELISA, IFAT, WB, C6 ELISA SNAP test, and fluorescent bead-based multiplex assay (Multiplex). The SNAP test can be performed in-clinic or stall-side, while the other tests are performed at reference laboratories. These tests detect antibody production by the host but differ in test methodology and which specific antibodies are detected. For example, the Multiplex assay detects antibodies against 3 outer surface proteins (Osps) of *B. burgdorferi*. Antibodies directed against OspA can indicate vaccination or natural infection, antibodies against OspC are considered to indicate recent infection, and antibodies against OspF are considered to indicate chronic infection. Although the pattern of antibody

production *might* help elucidate the chronicity of the horse's infection, none of these tests will tell you whether the infection is significant and related to the horse's clinical signs.

Some general rules for test interpretation follow.

- A positive test usually indicates past or present infection with *B. burgdorferi*, although vaccination can also cause positive results for some tests.
- Regardless of test utilized, clinical Lyme disease cannot be confirmed, and there is no gold standard test. Horses living in an endemic area are frequently seropositive, so positive results will have a low positive predictive value of disease. None of the tests prove causation of clinical signs or predict whether disease is likely to develop in the future. There is no known correlation between magnitude of titer and likelihood of disease. It is unclear how well tests that predict stage of infection perform with horses that have had repeated exposures.
- Although in theory documentation of intrathecal antibody production is recommended for the diagnosis of neuroborreliosis, in practice it becomes difficult. There is no established optimal cutoff for neuroborreliosis using a serum:CSF antibody ratio. Horses with neuroborreliosis frequently have abnormal CSF cytology and hence might have an abnormal blood-brain barrier, confounding results.
- Finally, at least for the diagnosis of neuroborreliosis, the Lyme Multiplex shows poor discriminatory ability. Recent retrospective analysis of Lyme Multiplex values for neurologic horses with post-mortem diagnoses shows similar results for horses with and without neuroborreliosis (8). Horses with neuroborreliosis can have negative Multiplex results, and horses without neuroborreliosis can have positive Multiplex results (on serum, CSF, and CSF:serum ratios).
- Negative test results usually have a high negative predictive value for disease. However, "false" negative results are possible in horses with acute infection, immune-compromise, or infection in immune-privileged sites (central nervous system or eyes) (9).

The author's current approach to diagnosing neuroborreliosis is to "back into" the diagnosis by testing for and ruling out all other plausible causes of the horse's neurologic signs. Abnormal CSF cytology, either neutrophilic or lymphocytic pleocytosis, is supportive. Serologic test results on serum and CSF are considered but negative results do not exclude the diagnosis, and positive results do not confirm it.

Treatment

The ideal treatment regimen for equine LNB is unknown. Investigation is hampered by lack of a disease model as well as lack of a reliable antemortem diagnostic test. Only one study using a small number of experimentally infected ponies has assessed efficacy of treatment against *Borrelia* (10). Based on this experimental study, many practitioners began treating suspected equine Lyme disease cases with 7-30 days of intravenous oxytetracycline (often 6.6 mg/kg IV q 24 h), occasionally followed by oral doxycycline (usually 10 mg/kg PO q 12 h). In cases where intravenous treatment is not feasible, oral doxycycline is often used exclusively. More recently, minocycline has been used (4 mg/kg PO q 12 h). Anecdotally, horses often improve with these therapies, though it is very difficult to ascertain whether the response is due to specific killing of *B. burgdorferi* or to non-specific anti-inflammatory effects, as tetracycline drugs are known to have potent anti-inflammatory properties via their inhibition of matrix metalloproteases (11). For horses with a suspected central nervous system infection, treatment recommendations based on human medicine include parenteral regimens of high-dose penicillin (44,000 U/kg IV q 4-6h), cefotaxime (25-50 mg/kg IV q 6-8h), or ceftazidime (20-40 mg/kg IV q 6-12h) (7). If these options are cost-prohibitive, minocycline (4 mg/kg PO q 12h) is likely to be more effective than doxycycline or oxytetracycline due to more favorable bioavailability and blood-brain barrier penetration, respectively.

References

1. Hahn CN, Mayhew IG, Whitwell KE, et al. A possible case of Lyme borreliosis in a horse in the UK. *Equine Vet J.* 1996;28:84-8.
2. James FM, Engiles JB, Beech J. Meningitis, cranial neuritis, and radiculoneuritis associated with *Borrelia burgdorferi* infection in a horse. *J Am Vet Med Assoc.* 2010;237:1180-5.
3. Imai DM, Barr BC, Daft B, et al. Lyme neuroborreliosis in 2 horses. *Vet Pathol.* 2011;48:1151-7.
4. Johnstone LK, Engiles JB, Aceto H, et al. Retrospective evaluation of horses diagnosed with neuroborreliosis on postmortem examination: 16 cases (2004-2015). *J Vet Intern Med.* 2016;30:1305-12.
5. Priest HL, Irby NL, Schlafer DH, et al. Diagnosis of *Borrelia*-associated uveitis in two horses. *Vet Ophthalmol.* 2012;15:398-405.
6. Sears KP, Divers TJ, Neff RT, et al. A case of *Borrelia*-associated cutaneous pseudolymphoma in a horse. *Vet Dermatol.* 2012;23:153-6.
7. Divers TJ, Gardner RB, Madigan JE, et al. *Borrelia burgdorferi* infection and Lyme disease in North American horses: a consensus statement. *J Vet Intern Med.* 2018;32(2):617-32.
8. Johnson AL, Johnstone LK, Stefanovski D. Cerebrospinal fluid Lyme multiplex assay results are not diagnostic in horses with neuroborreliosis. *J Vet Intern Med.* 2018;32(2):832-8.
9. Pecoraro HL, Felipe MJB, Miller AD, et al. Neuroborreliosis in a horse with common variable immunodeficiency. *J Vet Diagn Invest.* 2019;31(2):241-5.
10. Chang Y-F, Ku Y-W, Chang C-F, et al. Antibiotic treatment of experimentally *Borrelia burgdorferi*-infected ponies. *Vet Microbiol* 2005;107:285-94.
11. Sapadin AN, Fleischmajer R. Tetracyclines: nonantibiotic properties and their clinical implications. *J Am Acad Dermatol.* 2006;54:258-65.

Contact address

Amy L. Johnson, Associate Professor of Large Animal Medicine and Neurology, New Bolton Center, University of Pennsylvania School of Veterinary Medicine (USA)
amyjohn@vet.upenn.edu

Neurologische Fälle - Fallvorstellungen und Diskussion

Amy Johnson¹, Lutz Göhring²

¹Department of Clinical Studies – New Bolton Center, University of Pennsylvania School of Veterinary Medicine, USA; ²Zentrum für Klinische Tiermedizin – Klinik für Pferde, Tierärztliche Fakultät, Ludwig-Maximilians-Universität, München

Es werden aktuelle Fälle vorgestellt. Deshalb kann kein Manuskript zu diesen Vorträgen zur Verfügung gestellt werden.



Schwerpunkt

11th International Conference on Equine Reproductive Medicine 11th ICERM

Rackwitz R, Pees M, Aschenbach JR, Gäbel G (Hrsg.)
LBH: Proceedings 10. Leipziger Tierärztekongress – Tagungsband 2

Warmblood Fragile Foal Syndrome (WFFS) results in pregnancy loss in mares

Christine Aurich

Artificial Insemination and Embryo Transfer, Vetmeduni Vienna (Austria)

Occurrence of Warmblood Fragile Foal Syndrome (WFFS) in horses

Warmblood fragile foal syndrome (WFFS) is a monogenetic defect with autosomal recessive inheritance. It is characterised by a point mutation of the gene encoding for the procollagen-lysine, 2-oxoglutarate 5-dioxygenase 1 (PLOD1). Point mutations of this gene exist also in humans and are associated with a similar defect termed Ehlers Danlos-syndrome Type VI (1). In Germany, approximately 10 % of the Warmblood horse population have been tested as WFFS carriers. A similar percentage of WFFS heterozygous horses probably exist among the worldwide Warmblood horse population and has recently been published for Brazil (2). The WFFS carrier rate among Thoroughbred horses is much lower and almost no information on the WFFS carrier rates of other horses' breed is available, yet.

The WFFS homozygous state is incompatible with extra-uterine life. Based on the Mendelian Laws of Heredity, mating of WFFS heterozygous mares with heterozygous stallions will result in 50 % of the foals being heterozygous, 25 % being negative and 25 % being homozygous for the WFFS mutation. With 31,000 Warmblood mares being bred in Germany in 2018, approximately 10 % of them being WFFS carriers and a foaling rate of 80 %, statistically 62 WFFS homozygous foals were to be expected in 2019 with random mating being assumed (3). Despite this relatively frequent possible occurrence of homozygous WFFS pregnancies, only one case report on such a foal has been published so far (4). We thus hypothesize that pregnancies with fetuses homozygous for WFFS are often lost unnoticed by the owner.

Description of clinical findings in association with pregnancies of fetuses homozygous for WFFS

In the present investigation, we determined the outcome and spectrum of clinical signs and pathological alterations in 18 WFFS homozygous pregnancies. Abortions and stillborn foals came from diagnostic material provided by breeders or practicing veterinarians. All foals were genotyped and homozygous for the mutation of the PLOD1 gene that is characteristic for WFFS (5). The mean pregnancy length was 326 ± 15 days (\pm SD; $n=18$). From the 18 foals, 12 were born alive but either died within minutes after birth ($n=10$) or were euthanized ($n=2$). The other foals were found dead by the owner and it is unknown if they were born dead or alive. While no apparent skin or other defects were present in two foals, in 16 foals, skin defects were detected. The majority of these foals ($n=14$) presented solitary with multiple full skin defects of various sizes at different locations. In two foals, however, several hairless skin areas but no full skin separation was detected. Skeletal defects were frequent with either abnormal flexibility of the distal limb joints ($n=9$), stiff carpal and sometimes tarsal joints ($n=5$) or a severe scoliosis ($n=4$). These skeletal defects in five cases were associated with dystocia that required obstetrical intervention either by the owner or by a veterinarian. In disagreement with the report from Monthoux et al., an open abdominal wall was detected in only one foal questioning if this finding can be considered a main symptom of WFFS (4). Interestingly, intracranial ($n=2$) or intrathoracic haemorrhage ($n=3$) in association with rupture of blood vessels was detected in the five of eight foals that underwent necropsy.

Conclusion

WFFS predominantly manifests in the birth of life but non-viable foals close to or at term. Skin defects are a lead symptom, but not always present. If pregnancy loss occurs at earlier stages of gestation needs to be determined. Due to skeletal malformations, WFFS homozygous pregnancies going to term result in an above average occurrence of dystocia and thus are not only associated with dead foals but also endanger the live and future fertility of the dam.

References

1. Burrows NP. The molecular genetics of the Ehlers-Danlos syndrome. *Clin Exp Dermatol.* 1999;24:99-106.
2. Moraes Dias N, Abranches de Andrade DG, Teixeira-Neto AR, Moreira Trinquê C, Paes de Oliveira-Filho J, Winand NJ, et al. Warmblood Fragile Foal Syndrome causative single nucleotide polymorphism frequency in Warmblood horses in Brazil. *Vet J.* 2019;248:101-2.
3. German Equestrian Federation. Annual report on breeding statistics 2018. Warendorf: FN-Verlag; 2018. p. 6.
4. Monthoux C, de Brot S, Jackson M, Bleul U, Walter J. Skin malformations in a neonatal foal tested homozygous positive for Warmblood Fragile Foal Syndrome. *BMC Vet Res.* 2015;11:12. doi: 10.1186/s12917-015-0318-8.
5. Winand N. Identification of the causative mutation for inherited connective tissue disorders in equines. "United States Department Of Commerce Application Number: 61/486,464" [Internet]. May 2011 [cited Jul 2018]. Available from:
6. <http://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=WO2012158711&recNum=1&maxRec=1&office=&prevFilter=&sortOption=Pub+Date+Desc&queryString=FP%3A%28WO2012158711%29&tab=PCT+Biblio>.

Contact address

Prof. Dr. Christine Aurich, Artificial Insemination and Embryo Transfer, department for small animals and horses, Vetmeduni Vienna (Austria)
christine.aurich@vetmeduni.ac.at

Epididymal sperm harvesting and preservation

Stefanie Neuhauser, Johannes Handler

Pferdezentrum Bad Saarow, Freie Universität Berlin, Bad Saarow

Preservation of epididymal sperm enables to store genetic material of valuable sires in case of sudden death or unexpected injury ending the stallion's breeding career. Epididymal sperm can be used either for artificial insemination or for ICSI. In 1957, the first successful insemination with frozen-thawed epididymal sperm resulting in the birth of a healthy foal was reported (1).

Epididymal sperm can be harvested from living stallions by aspiration of sperm from the cauda epididymidis in the sedated animal. However, this method may cause risks for both, the veterinary surgeon and the stallion: the first might become injured and the latter is at risk of local infection and haemorrhage. In addition, only a low number of sperm can be expected, which is why gonadectomy is commonly performed under clinical conditions. This collection procedure is final, but usually more sperm is harvested.

Harvesting gonads and epididymides

Testicles and epididymides can be harvested in general anaesthesia similar to routine gonadectomy procedures. There is limited information concerning the influences of the type of anaesthesia on sperm quality (2). However, it is advantageous to remove the gonads before euthanasia, because post mortem sperm quality will decrease with time (3).

The spermatic cord should be emasculated as proximal as possible, because a valuable amount of sperm can be collected from the ductus deferens and the most caudal sperm will be more mature. To avoid sperm loss or contamination, the spermatic cord and especially the ductus deferens should be closed carefully with a ligature. Then the gonads and epididymides should be cleansed with isotonic saline and packed into an impermeable container or bag (e.g. a rectal glove) filled with an isotonic solution to prevent dehydration of the tissues. Cooled transportation to the laboratory is important (4) and an isolated box with ice packs will be useful. Care should be taken to prevent freezing of cells.

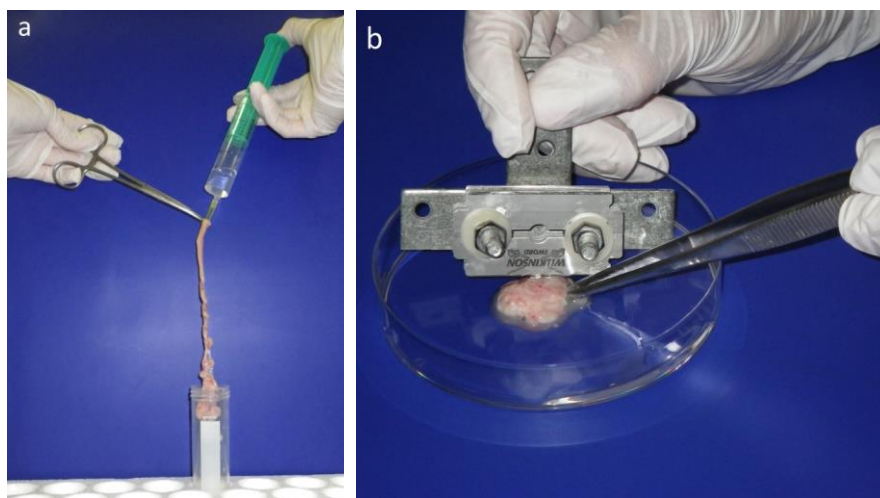


Fig. 1: Epididymal sperm harvesting using the retrograde flush technique (a) or mincing of the cauda epididymidis using razor blades preparing for the flotation technique (b).

Epididymal sperm harvesting

First, the cauda epididymidis is separated from the gonad. Then the connective tissue and blood vessels are carefully removed from the ductus deferens and the ductus epididymidis. Care should be taken to keep the tissue moist during the dissection procedure. Different methods of sperm harvesting have been described: the retrograde flush technique and the flotation technique (Fig. 1) (5). Using the retrograde flush technique, the highest amount of sperm harvested can be expected. A pipette tip connected to a syringe filled with the flushing medium (e.g. semen extender, Tyrodes medium, TALP, DPBS) is inserted into the lumen of the ductus deferens. Sperm is collected into a tube placed under the cauda epididymidis. During dissection and flushing, any breaking of the tubular system should be avoided.

If the ductus epididymidis is injured or the lumen is too small for the retrograde flush technique, the cauda epididymidis can be incised or minced using a scalpel or razor blades. Then the tissue is put into a tube filled with prewarmed extender and the sperm should move into the medium (flotation technique). However, usually less sperm is harvested and there will be an increased contamination with blood and non-sperm cells. Centrifugation will be necessary to separate debris or to concentrate semen.

Epididymal sperm preservation

Following sperm harvesting, a freezing extender is added to the sperm and extended sperm are filled into 0.5 ml straws. Freezing can be performed in nitrogen vapour using a programmable freezer or a floating rack. Slow cooling rates are desired. Therefore, it is advisable to cool the sample in the refrigerator before freezing, if only a floating rack is available. Different extenders and freezing procedures have been reported for epididymal sperm preservation. In our laboratory, we use commercially available semen extenders (e.g. INRA 96 + Gent freezing extender), dilute to a final concentration 200×10^6 sperm/ml and 2.5 % glycerol, fill into 0.5 ml straws, cool at $-0.3^\circ\text{C}/\text{min}$ between 20 and 5°C , followed by $-60^\circ\text{C}/\text{min}$ to -140°C . Then straws are stored in liquid nitrogen.

Table 1: Recommended sample collection for epididymal sperm preservation and how to bring gonads and epididymis to the laboratory.

- Gonadectomy under general anaesthesia (before euthanasia, if ethical)
- Ligature of the spermatic cord and ductus deferens as proximal as possible, keep the ductus deferens closed for transportation
- Keep the gonads moist (crystalloid solution) and cooled during transportation, avoid any freezing injury of the cells
- Collect blood samples or serum from the stallion, take swabs from the penis and the prepuce
- Collect hair from the stallion's mane or tail (DNA analysis for identification)
- Add the data of the stallion to the samples (e.g. copy of passport)
- Contact the laboratory before sending the gonads/epididymides

Insemination

Insemination is performed similar to frozen semen. Because only a limited number of sperm is available, low dose deep intrauterine insemination will be advantageous. In contrast to ejaculated sperm, epididymal sperm has not been in contact to seminal plasma. Seminal plasma improves sperm motility in a dose-dependent manner, changes the plasma membrane preparing sperm for

fertilization and has an immune-modulatory role in the female reproductive tract (6-8). However, seminal plasma also decreases sperm tolerance towards cold shock and high concentrations are avoided for semen preservation. Therefore, the addition of seminal plasma at the time of insemination could increase pregnancy success (9). Seminal plasma can be collected from a stallion housed in an AI centre by centrifugation and filtration of the ejaculate, filled into straws and stored in liquid nitrogen similar to frozen semen (10).

Disease control and identity verification

In our clinic, epididymal sperm is preserved only in case of emergency and we do not offer the procedure as an alternative for semen preservation at an AI centre. However, preventing transmission of infectious diseases and confirmation of the identity of the sire are of great importance. Blood or serum samples and swabs from the penis and prepuce should be collected by the referring veterinarian. Further, the case history, physical and pathological examinations are valuable to exclude infectious diseases. In addition, sperm samples should be evaluated for pathogenic agents. Collecting hair from the mane will be valuable for DNA analysis and parentage analysis. A recommended check list for bringing the samples to the laboratory is given in Table 1.

References

1. Barker CAV, Gandier JCC. Pregnancy in the mare resulting from frozen epididymal spermatozoa. *Can J Comp Med.* 1957;21:47-51.
2. Schulman ML, Gerber D, Nurton J, Guthrie AJ, Joubert K, Volkmann DH. Effects of halothane anaesthesia on the cryopreservation of spermatozoa in pony stallions. *Equine Vet J.* 2003;35(1):93-5.
3. Fernández-Santos MR, Soler AJ, Ramón M, Ros-Santaella JL, Maroto-Morales A, García-Álvarez O, et al. Effect of post-mortem time on post-thaw characteristics of Spanish ibex (*Capra pyrenaica*) spermatozoa. *Anim Reprod Sci.* 2011;129:56-66.
4. Neild D, Miragaya M, Chaves G, Pinto M, Alonso A, Gambarotta M, et al. Cryopreservation of cauda epididymidis spermatozoa from slaughterhouse testicles 24 h after ground transportation. *Anim Reprod Sci.* 2006;94:92-5.
5. Bruemmer JE. Collection and freezing of epididymal stallion sperm. *Vet Clin Equine.* 2006;22:677-82.
6. Troedsson MHT, Alghamdi AS, Mattisen J. Equine seminal plasma protects the fertility of spermatozoa in an inflamed uterine environment. *Theriogenology.* 2002;58:453-6.
7. Töpfer-Petersen E, Ekhlas-Hundrieser M, Kirchhoff C, Leeb T, Sieme H. The role of stallion seminal proteins in fertilisation. *Anim Reprod Sci.* 2005;89:159-70.
8. Neuhauser S, Dörfel S, Handler J. Dose-dependent effects of homologous seminal plasma on motility and kinematic characteristics of post-thaw stallion epididymal spermatozoa. *Andrology.* 2015;3:536-43.
9. Handler J, Neuhauser S. Influence of seminal plasma on pregnancy rates of frozen-thawed epididymal sperm. *Reprod Dom Anim.* 2014;49(Suppl.3):37-101; Abstract P80 p.71.
10. Neuhauser S, Gösele P, Handler J. Combined single-straw packaging of cryopreserved stallion epididymal sperm and separated homologous seminal plasma. *J Equine Vet Sci.* 2018;71:57-63.

Corresponding address

Dr. med. vet. Stefanie Neuhauser, Pferdezentrum Bad Saarow, Freie Universität Berlin, Bad Saarow
 stefanie.neuhauser@fu-berlin.de

Timing and frequency of AI with chilled and frozen semen in the mare

Tom Stout

Department of Equine Sciences, Utrecht University, The Netherlands

Introduction

When managing mares for artificial insemination (AI), the goal is to introduce enough 'fertile' spermatozoa into the uterus close enough to ovulation to offer an optimal chance of fertilization without compromising subsequent pregnancy maintenance, for example by provoking a persistent breeding-induced endometritis (PBIE). The exact strategy with regard to timing and frequency of AI will therefore take account not only of semen type (chilled or frozen) but also quality (number of 'normal' sperm), availability (i.e. days of the week; number of straws), previous experience of longevity (for some stallions cooled semen AI results are poor if the mare ovulates > 24 h after AI), and reproductive history and status of the mare (e.g. foal heat, previous history of PBIE). The major practical differences between chilled and frozen semen are the preferred time of AI with respect to ovulation, and that chilled semen is usually ordered relatively shortly before AI whereas frozen semen can be stored on site. While it is assumed that chilled semen retains fertilizing capacity for \geq 24 h after AI, compared to \sim 12 h for frozen-thawed semen, there is considerable between-stallion variation in both sperm longevity and number required for reasonable fertility. When sperm number is thought to be marginal, deep intrauterine AI can be used to try to maximize the number of sperm entering the oviduct.

Is one insemination enough?

A single AI per cycle has long been preferred because it will minimize the risk of PBIE, and thereby maximize the likelihood of pregnancy. There are also other practical reasons for preferring to minimize the number of inseminations per oestrus, for example because a stallion is very popular, only 1 straw of frozen semen is available and/or the straws of semen are very expensive. However, while minimizing the number of AIs per cycle is probably advisable for mares likely to have difficulty resolving the post-mating inflammatory reaction, a number of surveys have found that pregnancy rates are higher for mares inseminated more than once per oestrus (1,2). While it is not entirely clear why extra inseminations help, it may relate to establishment of an oviductal sperm reservoir, or it may simply be that additional AIs increase the number of viable spermatozoa introduced into the mare's uterus or improve the likelihood of the mare being inseminated close to the time of ovulation. Whatever the reason, for sub-fertile stallions or when a dose of chilled semen contains very low numbers of (motile) sperm, the author prefers to AI twice at a 15-24 h interval, if possible. Planning for a double AI can also make mare monitoring less labour intensive.

Predicting and/or inducing ovulation

Predicting the time of ovulation is the most important step in deciding when to perform AI. General indicators of impending ovulation include follicle size (using maximum size in previous cycles as a guide), follicle softening and follicle wall appearance (thickened, anechoic line), and changes in the intensity of uterine oedema (decreasing from approx. 24-48 h before ovulation). However, none of these parameters is a 100 % reliable predictor of when, and even if, a mare will ovulate. This is not critical if the semen is readily available and there is no reason to avoid multiple AI; however, planning an AI can be challenging if the semen is in short supply, is very expensive, is only available on certain days of the week, or has to be ordered more than a day in advance. Inducing ovulation using gonadotrophins is therefore a valuable aid to AI management,

notwithstanding that mares presented very close to ovulation will not 'wait' for the effects of an induction agent.

The major ovulation inducing agents available are human chorionic gonadotrophin (hCG) and long acting GnRH analogue preparations. Ovulation is typically induced when a mare is in heat (e.g. obvious uterine oedema) with a large pre-ovulatory follicle (>35 mm). Approximately 80 % of mares ovulate 36 ± 4 h after hCG, and failure to respond is more common in older mares, and mares treated too early in oestrus or repeatedly within a season (1). With GnRH analogues (e.g. deslorelin implants [OvuplantTM], or high dose buserelin [SuprefactTM]), ovulation is expected 41 ± 3 h after administration (3). A reported risk of using GnRH implants (e.g. OvuplantTM) to induce ovulation, is suppression of pituitary gonadotrophin secretion resulting in inhibition of follicle development; fortunately, this suppression seems to be short-lived (approx. 10 days) and is therefore only really an issue in embryo donor mares (4). In addition, the risk of can be averted by placing the implant in the vaginal mucosa and removing it once ovulation has occurred. While GnRH analogues are thought to be more reliable than hCG, they are not infallible; anecdotal reports suggest that failure is more likely for the first ovulation of the year, presumably because there not enough endogenous LH to stimulate ovulation

Chilled semen

When chilled semen is available daily, AI management involves simply inducing ovulation and ordering semen for the following day. For mares that appear very close to ovulation at first examination, same day AI may be required. If that is not possible, and the mare has ovulated by the following morning, it is probably still worth performing AI in the afternoon; pregnancy rates do not seem to be markedly reduced. There are also situations (e.g. sub-fertile stallion) when is preferable to plan two AIs in an oestrus (24-48 h interval), although the owner of the stallion may take some convincing. Two AIs can also be achieved by splitting a chilled AI dose over 2 consecutive days (keep half in the fridge overnight). The rationale is the increasing number of surveys reporting higher pregnancy rates when mares are inseminated more than once per oestrus (1,2).

Frozen semen

For frozen semen AI, the dogma has long been that AI should be performed between 12 h before and 8 h after ovulation. This is labour intensive, since it can only be guaranteed by checking mares at 8 h intervals and inseminating post-ovulation. Fortunately, there appears to be more room for manoeuvre. Sieme et al. reported similar pregnancy rates for mares AI'd once with frozen-thawed semen anywhere between 12 h before and 12 h after ovulation, and Newcombe et al. found no differences in pregnancy or subsequent embryonic loss rates for mares AI'd once post-ovulation with examination intervals ranging from 0-3 h to 12-15 h (1,5). Based on these findings, our protocol for mares to be AI'd with a single straw of frozen-thawed semen involves inducing ovulation at 20:00-22:00, checking for ovulation twice the following day (8:00 and 17:00) to rule out 'early' ovulation. Unless ovulation appears imminent at an examination, the next check is at 8:00 the next day (i.e. 33-34 h after ovulation induction) when only a small percentage will have ovulated (and are AI'd immediately). At 12:00, the majority of mares will have ovulated and will be AI'd. Where multiple straws are available, we prefer to split the dose and inseminate twice, once before and once after ovulation; in our hands, this improves pregnancy rates (approx. 50 % versus 35 % per cycle). When the split-dose protocol is used, ovulation is induced in the morning (08:00), and half of the dose is inseminated the following afternoon (16:00; i.e. 32 h later). The other half of the dose is inseminated the following morning, assuming ovulation has taken place. If the mare does not ovulate when expected, half of the semen is retained for a single post-ovulation AI.

Conclusions

Management of mares for AI with chilled or frozen semen can be straightforward, if sufficient semen is available, mares are presented early in oestrus and respond predictably to ovulation induction. It becomes challenging when chilled semen has to be ordered days before AI, or when only a single straw of frozen semen is available. In such situations, ovulation induction is invaluable, and strategic timing of induction can make the process less labour intensive. In the author's opinion, there is more scope for improving results by establishing individual stallion requirements for minimum sperm number and maximum AI-ovulation interval, than examining mares more often to determine the 'exact moment of ovulation'.

References

1. Sieme H, Schäfer T, Stout TA, Klug E, Waberski, D. The effects of different insemination regimes on fertility in mares. *Theriogenology*. 2003;60:1153-64.
2. Vidament M. French field result (1985-2005) on factors affecting fertility of frozen stallion semen. *Anim Reprod Sci*. 2005;89:115-36.
3. McKinnon AO, McCue PM. Induction of ovulation. In: McKinnon AO, Squires EL, Vaala WE, Varner DD, editors. *Equine Reproduction*, 2nd edition. Vol. 2: Wiley-Blackwell; 2012. p. 1858-69.
4. Johnson CA, Thompson DL Jr, Cartmill JA. Pituitary responsiveness to GnRH in mares following deslorelin acetate implantation to hasten ovulation. *J Anim Sci*. 2002;80:2681-7.
5. Newcombe JR, Paccamonti D, Cuervo-Arango J. Reducing the examination interval to detect ovulation below 12 h does not improve pregnancy rates after postovulatory insemination with frozen/thawed semen in mares. *Anim Reprod Sci*. 2011;123:60-3.

Contact address

Professor Tom Stout, Utrecht University
t.a.e.stout@uu.nl

Immunization against GnRH in stallions

Dominik Burger

Swiss Institute of Equine Medicine, University of Berne, and Agroscope, Avenches, Switzerland

1. Introduction

There are numerous indications for suppressing reproductive endocrine function in horses, the most frequent being the inhibition of undesirable sexual behaviour. Immunization against GnRH offers a viable and reversible alternative to surgical or hormonal castration by circumventing surgical risk, frequent drug administration and residue problems (Stout & Colenbrander, 2004). Since 1985, several studies have been published investigating the anti-GnRH effect on reproductive activity, some documenting effective suppression of gonadal function along with a subsequent reversal of these effects, while others documented greater individual variation and less reliable results. In 1998, an anti-GnRH vaccine (Improvac®, Pfizer Animal Health, Australia) has become commercially available to control boar taint and since 2009 is also registered in the EU. In 2001, Equity™, produced from the same company and with a modified formulation, was licensed for specific use in mares in Australia and New Zealand. In a short time, both vaccines have since been widely used in the horse industry.

2. Effects on semen parameters, libido, testosterone, scrotal size and fertility

In the so far only peer-reviewed controlled study in stallions (Janett et al., 2009) eight sexually experienced stallions (6-15 years old) were used. Five stallions were immunized with Equity™ 3 times at an interval of 4 and 8 weeks, respectively, with 200 µg of Equity™. Plasma testosterone concentrations, GnRH antibody titers, semen quality, scrotal size and sexual behaviour were determined weekly during 52 weeks.

It was found that the total sperm number, percentage of normal sperm and motility of all treated stallions continuously decreased after the second vaccination. However, semen production was never entirely suppressed. All the above parameters tended towards prevaccination levels 10-12 months after initiation of the study. Decrease in libido was significant but varied individually occurring 13-18 weeks after the first vaccination and lasting 10-32 weeks. While the decrease in one stallion was only slight, the remaining four showed gelding like behaviour. As also found by Bruyas et al. (2016), scrotal size decreased significantly. At the end of the experiment, 4/5 stallions regained their original libido and one stallion remained suppressed.

In addition, we currently evaluate the effects of GnRH vaccination on males in a field observation study, carried out with horses of various breeds and ages, vaccinated once, twice or more with 200 or 400 µg of Improvac® or Equity™, including permanent EAV-shedding stallions aged 3-25 years (see below). Preliminary results demonstrate, that ca. 80% of the non-breeding stallions responded with a decrease in libido, the duration of which varied greatly among single individuals.

To detect long time effects of GnRH immunization and resumption of reproductive activity, testosterone blood levels in the stallion have been found to be good indicators (Janett et al., 2009), whereas GnRH antibody titres (Janett et al., 2009) and plasmatic levels of Anti Mullerian Hormone are not reliable (Dordas-Perpinya et al., 2018). In the studies of Imboden et al. (2006) as well as of Elhay et al. (2007) in mares, all showed an immediate and distinct antibody response after the first vaccination. Antibody titers, however, were not clearly related to the duration or the degree of ovarian suppression. In the stallions (Janett et al., 2009) individual GnRH antibody titres peaked 2 months after the first immunization and remained high until the end of the study. Plasma testosterone concentrations decreased significantly in this study: starting at 2 weeks after the second vaccination

only low concentrations (<0.1-0.5 ng/ mL plasma) were observed in 4/5 stallions. Plasma testosterone remained suppressed for at least 6 months. Until the end of the experiment, two stallions reached prevaccination testosterone values. Also in our field study, only ca. 70 % of the vaccinated stallions showed normal values after 1 year (reversible stallions), whereas ca. 30 % of the stallions had still basal values, 50% of the latter even after 2 years (non-reversible stallions).

In the experiment of Janett et al. (2009), fertility of vaccinated horses has not been documented. In our current field observations, some of the vaccinated stallions were supposed to breed the year after. All reversible stallions showed normal fertility, whereas non-reversible stallions (basal testosterone level) were no more usable for breeding.

3. Effects on EAV shedding stallions

Furthermore, GnRH vaccination may prove to be a therapeutic alternative for the treatment of equine arteritis virus (EAV) shedder stallions (Burger et al., 2004/ 2006; Prohaska, 2011). Indeed, in the stallion, persistence of the equine arteritis virus in the accessory sex glands has been shown to be androgen dependent. At present castration is the only successful treatment. In our current field study with more than 50 vaccinated shedding stallions, EAV could no longer be isolated by RT-PCR assay from the semen in 95% of the cases 2-8 months after the first immunization and from all subsequent semen collections. All EAV-stallions having converted after GnRH immunization kept their non-shedding status so far.

4. Adverse effects of the vaccines

In the Improvac® study of Imboden et al. (2006) in mares, eight of 9 showed reactions of varying severity and duration, including swelling and pain at the injection site, stiffness of the neck, pyrexia and apathy, which were more serious after the booster injection. Considerable adverse effects after Improvac® were also observed in our field study: two horses developed an anaphylactic shock, leading to the death of one of them, an 18-year-old stallion. In practice the simultaneous treatment of Phenylbutazone or Metacam over 3 days is nowadays commonly used by practitioners when treating with Improvac®. In the Equity™ studies of Janett et al. (2009) and Elhay et al. (2007), approximately 40% of the vaccinated horses reacted with a transient slightly raised and flat swelling of the skin following first or second immunization. No further complications were recorded.

5. Conclusions and perspectives

Obtained results in the experimental study and observations in the field demonstrate that active immunization with both Equity™ and Improvac® against GnRH reliably suppresses testicular function. This suggests that mentioned GnRH vaccines can be a useful tool for temporary management of undesirable sexual behaviour in adult stallions. Additionally, results demonstrate that vaccination against GnRH represents a very interesting method for successfully treating EAV-shedding breeding stallions. No difference of efficacy neither of the two vaccine formulations nor of the dosage of Improvac® (200 or 400 µg) could be found in the field experiences so far. However it must be noted, that the vaccine Equity™ appears to be much safer for use in horses than Improvac®. Unfortunately, Equity™ is not yet registered outside of Australia and New Zealand.

Despite these positive results, the duration of the inhibitory effect is highly variable, not clearly related to GnRH antibody titers and resumption of sexual activity and reversal cannot be guaranteed. In addition, some doubts remain about long-term effects on their reproductive potential. The minimal age of vaccinated animals, dosage, number and interval of booster vaccinations required for an optimal effect need further investigation. For stallions with too low testosterone level over one year after vaccination, some promising trials aiming to support the GnRH axis during breeding season either with busereline (subcutaneous or implant) or desloreline (implant) were demonstrated (Vidament et al. 2010) and are currently taking place.

6. References

1. Bruyas, J.F., Dreau, M.-L., Bailly-Chouriberry, L., Popot, M.-A., Nguyen, F., Loup, B., Garcia, P., Bonnaire, Y. (2016): Morphological, hormonal and histological modifications induced by immunisation against GnRH in stallions. *Reproduction Domestic Animals* 51 (supp.2), 55.
2. Burger, D., Janett, F., Imboden, I., Zientara, S., Timoney, P., Thun R. (2004): Treatment of an equine arteritis virus-shedding stallion by immunization against GnRH. In: *The 15th International Congress on Animal Reproduction*, Porto Seguro, Brazil, p 281.
3. Burger, D., Janett, F., Vidament, F., Stump, R., Fortier, G., Imboden, I., Thun, R. (2006): Immunization against GnRH in adult stallions: effects on semen characteristics, behaviour and shedding of equine arteritis virus. *Anim. Reprod. Sci.* 94, 107-111.
4. Dordas-Perpinya, M., Gorreguès, M., Gervasoni, M.-A., Berder, C., Thorin, C., Jaillardon, L., Bruyas, J.-F. (2018): What Is the Effect of Anti-GnRH Immunization on Plasmatic Levels of Anti Mullerian Hormone? *Journal of Equine Veterinary Science* 66, 26.
5. Elhay, M., Newbold, A., Britton, A., Turkley, P., Dowsett, K., Walker, J. (2007): Suppression of behavioural and physiological oestrus in the mare by vaccination against GnRH. *Aust. Vet. J.* 85, 39-45.
6. Imboden, I., Janett, F., Burger, D., Crowe, M.A., Hässig, M., Thun, R. (2006): Influence of immunization against GnRH on reproductive cyclicity and estrous behavior in the mare. *Theriogenology* 66, 1866-1875.
7. Janett, F., Stump, R., Burger, D., Thun, R. (2009): Suppression of testicular function and sexual behaviour by vaccination against GnRH (EquityTM) in the adult stallion. *Animal Reproduction Science* 115, 88-102.
8. Prohaska, C. (2011); Epidemiologische Untersuchungen zur Ausbreitung des Equinen Arteritisvirus (EAV) und Elimination des Virus von virusausscheider-Hengsten in einer geschlossenen Pferdepopulation durch die Verabreichung der GnRHHVakzine Improvac®. Inaugural-Dissertation Doctor Medicinæ Veterinariae, Universität Wien
9. Stout, T.A.E., Colenbrander, B. (2004): Suppressing reproductive activity in horses using GnRH vaccines, antagonists or agonists. *Anim. Reprod. Sci.* 82-83, 633-643.
10. Vidament, M., Ferry, B., Laine, A.L., Wimel, L., Miszczak, F., Burger, D., Briant, C., Decourt, C., Caraty, A. (2010): L'injection journalière d'un agoniste de GnRH restaure la fonction de reproduction chez des étalons castrés à long terme par une immunisation anti-GnRH. 136^{ème} Journée de la Recherche Equine Jeudi 4 mars 2010.

Contact address

PD Dr med vet Dominik Burger, ISME Avenches
dominik.burger@vetsuisse.unibe.ch

Clinical applications of anti-Müllerian hormone assay in mares and stallions

Anthony Claes, Tom Stout

Department of Equine Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University (Netherlands)

Introduction

Anti-Müllerian hormone (AMH) is a homodimeric glycoprotein member of the transforming growth factor family (1). AMH is secreted by the Sertoli cells of the fetal, pre-pubertal and post-pubertal testis, and by the granulosa cells of the post-natal ovary. AMH is primarily known for its pivotal role in sexual differentiation during which it induces regression of the Müllerian ducts (the precursor of the oviduct, uterus, cervix and cranial vagina) such that the foetus develops male rather than female internal genitalia (2,3). However, after birth AMH is still produced and plays important roles in Leydig cell differentiation and folliculogenesis (4,5). Besides these physiological functions, AMH can serve as a valuable biomarker for a variety of physiological and pathological conditions of the ovary and testis.

Clinical applications in mares

Endocrine marker for granulosa theca cell tumour (GTCT)

Granulosa theca cell tumours are the most common type of ovarian tumour in mares and are usually characterized by behavioural changes (prolonged anoestrus, stallion-like behaviour, nymphomania), and unilateral ovarian enlargement, typically with a honeycomb ultrasonographic appearance. Because equine GTCTs are often hormonally active, a hormone assay panel can be useful for confirming the diagnosis of a GTCT. The endocrine panel for GTCT diagnosis includes circulating progesterone, testosterone, inhibin, and AMH concentrations. Although normal cyclicity has been reported in mares with a GTCT, the majority of affected mares are acyclic with an inactive contralateral ovary and, since GTCTs rarely produce progesterone, mares with a GTCT typically exhibit basal progesterone concentrations (< 1 ng/mL). By contrast, GTCT can secrete androgens and testosterone is elevated in approximately 50 % of mares with a GTCT, while inhibin is increased in 80 to 90 % of affected mares (6). Nevertheless, the endocrine marker with the highest diagnostic sensitivity appears to be AMH; with AMH concentrations reported to be significantly elevated in 98 % of mares with a GTCT (7). Furthermore, AMH is valuable for detecting GTCTs in pregnant mares because circulating AMH concentrations are not increased during normal pregnancy (8). This is in contrast to testosterone and inhibin concentrations which are elevated during the later stages of gestation (9,10). Another important advantage of measuring AMH concentrations is that AMH is ovarian specific, whereas testosterone and oestrogens can also originate from the adrenal gland (11). Finally, circulating AMH concentrations are relatively stable throughout the oestrus cycle whereas concentrations of inhibin and testosterone can vary markedly depending on the stage of the oestrous cycle (12,13). In short, AMH is a sensitive biomarker for the presence of a GTCT that offers several advantages over inhibin and testosterone.

Endocrine marker for ovarian reserve

It is well established that, on average, the reproductive success of mares decreases after 15 years of age. While ovarian senescence in aged mares is less common than the menopause in women, it is a similar phenomenon (14). Ovarian senescence is characterized by a depleted follicular pool and initially manifests as prolonged inter-ovulatory intervals, fewer antral follicles, and ovulation

of smaller follicles; once the pool of primordial follicles is severely depleted, ovarian senescence can progress to failure to produce and ovulate follicles and therefore complete acyclicity. In other species, estimation of the ovarian follicular reserve has been reported either by determining the number of antral follicles or by measuring AMH concentrations since both are correlated with the number of primordial follicles (15). In middle-aged and old mares, anti-Müllerian hormone concentrations are positively correlated with antral follicle count (AFC); in fact, the correlation between AFC and AMH is strongest in aged mares. Although AMH concentrations vary widely between mares within the same age group, mean AMH concentrations are significantly lower in aged than in middle-aged mares (16). More specifically, a study that included 1101 mares of different ages showed that circulating AMH concentrations remain relatively stable until 20 years of age after which they decline to reach low to non-detectable in mares older than 25 years of age (17). Thus, the age-related decline in AMH concentrations after 20 years of age in combination with the strong positive correlation between AMH and AFC in aged mares suggests that AMH can be used to assess ovarian reserve in aged mares.

Clinical applications in stallions

Endocrine marker for cryptorchidism

Unilateral or bilateral retention of a testicle in the inguinal canal or abdominal cavity is better known as cryptorchidism. Detecting retained testicles using transrectal, or percutaneous ultrasonography of the inguinal canal or abdominal cavity requires some experience. Therefore, when no scrotal testis is present, equine veterinarians often perform hormone analysis to help in the diagnosis of cryptorchidism. In practice, testosterone (baseline or after hCG stimulation), estrone sulphate, and anti-Müllerian hormone have all been used as diagnostic markers for cryptorchidism (18). Recent studies indicated that AMH might be a more valuable diagnostic marker than testosterone or estrone sulphate concentrations. First, circulating AMH concentrations are undetectable or low in geldings, and are much higher in cryptorchid stallions than in intact stallions (19). Second, AMH appears to be more sensitive and specific for detecting retained testicular tissue than testosterone. This is because AMH is produced only by the Sertoli cells of the testis in males whereas testosterone can also originate from the adrenal glands. In addition, several cryptorchid cases have been described in which baseline testosterone was low or inconclusive whereas AMH concentrations were elevated and clearly indicated the presence of testicular tissue (20). Finally, circulating AMH concentrations are high in prepubertal colts and, even though AMH declines during pubertal development, AMH concentrations remain high in adult stallions (19). This, in turn, indicates that AMH can be used as diagnostic marker in all age groups whereas testosterone and oestrone sulphate are only useful after 18 months and 3 years of age, respectively. Finally, it is important to know that it may take up to two weeks after castration before AMH concentrations fall to those consistent with being a gelding because AMH has a longer biological half-life ($t_{1/2}$: 1.5-2 days) than testosterone ($t_{1/2}$: 1 hour and 6 minutes). The long biological half-life of AMH also explains why there is less diurnal variation in circulating AMH than testosterone concentrations which, in turn, means that AMH can be used to diagnose cryptorchidism using a single blood sample taken at any time of the day.

Endocrine marker for testicular degeneration

Testicular degeneration is an important contributor to reduced fertility or sub-fertility in stallions. Testicular degeneration can be caused by various types of insult to the testis including trauma, toxins, heat, etc., but can also be idiopathic. The idiopathic form of testicular degeneration is often referred as age-related testicular degeneration. The diagnosis of testicular degeneration is generally based on a decrease in testicular size, accompanied by similar falls in per cycle pregnancy rate and semen quality. To further support diagnosis, veterinarians sometimes perform an endocrine panel

that includes inhibin concentrations (21). Because AMH is produced exclusively by the Sertoli cells, it could be of value for assessing Sertoli function in stallions suspected of testicular degeneration. In this respect, it has been shown that AMH concentrations in stallions are influenced by season with higher AMH concentrations during the breeding season. These seasonal changes in circulating AMH concentrations could be the result of changes in Sertoli cell number or responsiveness to gonadotropins (19). Moreover, in a recent study testicular degeneration was induced in stallions (n=6) by administering a toxic agent and this resulted in a profuse increase in circulating AMH concentrations (> 200 %) while sperm motility and number decreased significantly. In addition, immature germ cells appeared in the ejaculate indicating testicular degeneration. In short, AMH was a useful biomarker for testicular degeneration induced by a toxic agent (22). Nevertheless, it is unknown whether similar changes arise during age-related testicular degeneration in stallions, and reference ranges will need to be established before AMH can be recommended as an endocrine marker for testicular degeneration in practice.

References

1. Picard JY, Tran D, Josso N. Biosynthesis of labeled anti-mullerian hormone by fetal testes - evidence for glycoprotein nature of hormone and for its disulfide-bonded structure. *Mol Cell Endocrinol*. 1978;12(1):17-30.
2. Jost A. Recherches sur la differentiation sexuelle de l'embryon de lapin. III. role des gonades foetales dans la differenciation sexuelle somatique. *Arch Anat Microsc Morph Exp*. 1947;36:271-315.
3. Josso N, Cate RL, Picard JY, Vigier B, di Clemente N, Wilson C, et al. Anti-mullerian hormone: The jost factor. *Recent Progress in Hormone Research*. 1993;48:1-59.
4. Behringer RR, Finegold MJ, Cate RL. Mullerian-inhibiting substance function during mammalian sexual development. *Cell*. 1994;79(3):415-25.
5. Durlinger ALL, Kramer P, Karels B, de Jong FH, Uilenbroek JTJ, Grootegoed JA, et al. Control of primordial follicle recruitment by anti-mullerian hormone in the mouse ovary. *Endocrinology*. 1999;140(12):5789-96.
6. McCue PM, Roser JF, Munro CJ, Liu IK, Lasley BL. Granulosa cell tumors of the equine ovary. *Vet Clin North Am Equine Pract*. 2006;22(3):799-817.
7. Ball BA, Almeida J, Conley AJ. Determination of serum anti-mullerian hormone concentrations for the diagnosis of granulosa-cell tumours in mares. *Equine Veterinary Journal*. 2013;45(2):199-203.
8. Almeida J, Ball BA, Conley AJ, Place NJ, Liu IK, Scholtz EL, et al. Biological and clinical significance of anti-mullerian hormone determination in blood serum of the mare. *Theriogenology*. 2011;76(8):1393-403.
9. Silberzahn P, Zwain I, Martin B. Concentration increase of unbound testosterone in plasma of the mare throughout pregnancy. *Endocrinology*. 1984;115(1):416-9.
10. Nambo Y, Nagata S, Oikawa M, Yoshihara T, Tsunoda N, Kohsaka T, et al. High concentrations of immunoreactive inhibin in the plasma of mares and fetal gonads during the second half of pregnancy. *Reprod Fertil Dev*. 1996;8(8):1137-45.
11. Morganti M, Conley AJ, Vico AE, Munro CJ, Ball BA. Stallion-like behavior in mares: What is the role of the adrenal glands? In *Proceedings, 56th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners*. 2010;56:314.
12. Roser JF, McCue PM, Hoye E. Inhibin activity in the mare and stallion. *Domestic Animal Endocrinology*. 1994;11(1):87-100.
13. Bergfelt DR, Mann BG, Schwartz NB, Ginther OJ. Circulating concentrations of immunoreactive inhibin and FSH during the estrous cycle of mares. *Journal of Equine Veterinary Science*. 11(6):319-22.
14. Carnevale EM, Bergfelt DR, Ginther OJ. Follicular activity and concentrations of FSH and LH associated with senescence in mares. *Anim Reprod Sci*. 1994;35(3-4):231-46.
15. Kevenaar ME, Meerasahib MF, Kramer P, van de Lang-Born BM, de Jong FH, Groome NP, et al. Serum anti-mullerian hormone levels reflect the size of the primordial follicle pool in mice. *Endocrinology*. 2006;147(7):3228-34.

16. Claes A, Ball BA, Scoggin KE, Esteller-Vico A, Kalmar JJ, Conley AJ, et al. The interrelationship between anti-mullerian hormone, ovarian follicular populations, and age in mares. *Equine Veterinary Journal*. 2014.
17. Uliani RC, Conley AJ, Corbin CJ, Friso AM, Maciel LFS, Alvarenga MA. Anti-mullerian hormone and ovarian aging in mares. *J Endocrinol*. 2019;240(2):147-56.
18. Cox JE, Redhead PH, Dawson FE. Comparison of the measurement of plasma testosterone and plasma estrogens for the diagnosis of cryptorchidism in the horse. *Equine Vet J*. 1986;18(3):179-82.
19. Claes A, Ball BA, Almeida J, Corbin CJ, Conley AJ. Serum anti-mullerian hormone concentrations in stallions: Developmental changes, seasonal variation, and differences between intact stallions, cryptorchid stallions, and geldings. *Theriogenology*. 2013;79(9):1229-35.
20. Claes A, Ball BA, Corbin CJ, Conley AJ. Anti-müllerian hormone as a diagnostic marker for equine cryptorchidism in three cases with equivocal testosterone concentrations. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2014;34(0):442-5.
21. Oristaglio Turner RM. Pathogenesis, diagnosis, and management of testicular degeneration in stallions. *Clinical Techniques in Equine Practice*. 2007;6(4):278-84.
22. Pozor M, Conley AJ, Roser JF, Nolin M, Zambrano GL, Runyon SP, et al. Anti-müllerian hormone as a biomarker for acute testicular degeneration caused by toxic insults to stallion testes. *Theriogenology*. 2018;116:95-102.

Contact address

Dr. Anthony Claes, Department of Equine Sciences, Utrecht University (Netherlands)
a.claes@uu.nl

Progestins in studfarm practice

Mats HT Troedsson and Carleigh E Fedorka

Maxwell H. Gluck Equine Research Center, University of Kentucky, Lexington (USA)

Introduction

Progestins are synthetic forms of progesterone (P4), designed to interact with P4 receptors and cause progesterone-like biological effects. Several progestins are commercially available for human and animal use, but only altrenogest (ALT; Regumate®) has P4-like effects in horses (1-3). ALT is a derivate of nortestosterone with a structural relation to trenbolone and is therefore, likely to bind to a variety of steroid receptors in addition to its high affinity to progesterone receptors (PR) (4). This ability expands the biological activity of ALT beyond that of P4, but an anabolic effect of altrenogest has not been demonstrated in horses (5). It has however, been noted that fillies born to ALT treated mares had enlarged clitori, suggesting an androgen effect of this progestin, although this does not appear to affect reproductive performance in the offspring (6,7). Treatment with ALT is permitted by FEI in mares for the suppression of estrus but banned in other genders and by several other equestrian organizations. This review will summarize current use of altrenogest, and available scientific evidence of its biological effects.

Non-pregnant mares

Daily oral treatment of 0.044 mg/kg ALT sufficiently suppresses estrus (2). Similarly, compounded injectable formulations of long-acting ALT suppresses behavioral estrus when administered as recommended by the manufacturers (3,8).

ALT treatment can delay ovulation in mares by activating PR, resulting in the suppression of LH release from the anterior pituitary (3). However, short term treatment of mares with pre-ovulatory follicles in estrus was not successful in preventing ovulation (9). ALT has also been used to synchronize estrus, but while progestins suppress the release of LH, the effect on FSH is less evident, resulting in normal development of follicles. Hence, progestin treatment results in a reduction of ovulations, but does not synchronize follicular growth in treated mares.

Pregnant mares

Synthetic progestins are commonly used in stud farm practice to maintain pregnancy during early gestation (10), as well as during late gestation in mares with placentitis (11,12). Although long term treatment with ALT is not recommended by the manufacturer, treatment throughout gestation is often used as an “insurance policy” for maintenance of pregnancy. Recent information suggests that this practice may be associated with previously unknown side effects.

P4 is produced by the ovaries until 120-150 days of gestation when the pregnancy becomes fully dependent on progestogens (5a-DHP, 20a-5P) from the feto-placental unit. Secondary luteal deficiency as a result of endogenous release of PGF2a associated with systemic or uterine inflammation, endotoxemia, etc. is detrimental if it occurs prior to this time. In these situations, it is recommended to start mares on ALT (0.044 mg/kg) and continue treatment throughout the duration of disease. There is no cross reaction between ALT and P4 in commercial P4 assays, so blood samples obtained after recovery from disease will determine if luteolysis occurred ($P4 < 1 \text{ ng/mL}$) or not. Results can guide the clinician in the decision to discontinue or continue treatment until the feto-placental unit provides necessary progestogen support to maintain the pregnancy. It should be noted that ALT treatment can suppress endogenous production of P4 and may interfere with the formation of secondary corpora lutea (13,14).

While low circulatory P4 concentrations are incompatible with maintenance of pregnancy, there is limited scientific data to support a primary failure of the corpus luteum (CL) as a cause of embryonic loss. Additionally, measuring circulating P4 concentrations in a single blood sample to determine if the pregnancy is at risk is not accurate (unless P4 < 1 ng/mL), due to variations in secretion of this hormone during the day.

Treatment with a “double dose” of ALT (0.088 mg/kg) to prevent late term abortion in mares is based on the observation that this treatment prevented pregnancy loss in an experimental model in which researchers induced abortion with a synthetic prostaglandin at 90-115 days of gestation (15). Progestin has been suggested to maintain pregnancy in late gestation by inducing myometrial quiescence, suppressing PGF2a secretion, and through a presumed modulation of cytokines. However, these assumptions have been questioned by conflicting clinical data as well as research that failed to detect an effect on mRNA expression of selected cytokines and cyclooxygenase 2 in ALT-treated pregnant mares (12,16,17). Furthermore, ALT treated mares with normal pregnancies experienced shorter gestation length compared to untreated controls, raising questions on the mechanism of progestin’s presumed effect to prevent abortion in high risk mares (18). Interestingly, ALT treatment of pregnant mares appeared to affect neonatal health of the foals, suggesting a suppression of their immune system (18). In support of these findings, we recently observed alterations of pro- and anti-inflammatory cytokine expression in endometrial tissue of ALT treated non-pregnant mares (19). Taking together, these data put into question the efficacy of ALT in maintaining high risk pregnancies and may suggest that treatment is associated with previously unknown negative side effects. Since clinical impressions support the inclusion of progestin in placentitis treatment regimens, more research is obviously needed in this area.

Conclusion

The use of progestin is a valuable clinical tool in various aspects of stud farm practice. In the past, progestin treatment has been considered to be without side effects and perhaps overused as an insurance policy of pregnancy maintenance. Recent information suggests that long term use of ALT, particularly during late gestation may be associated with immune related side effects in mares and foals. This possibility should be considered when benefits are weighed against risks in clinical situations.

References

23. McKinnon AO, Lescun TB, Walker JH, Vasey JR, Allen WR. The inability of some synthetic progestogens to maintain pregnancy in the mare. *Eq Vet J.* 2000;32(1):83-5.
24. McCue PM. Estrus suppression in performance horses. *J Eq Vet Sci.* 2003;23:341-45.
25. Storer WA, Thompson DL, Gilley RM, Burns PJ. Evaluation of injectable sustained release progestin formulations for suppression of estrus and ovulation in mares. *J Eq Vet Sci.* 2009;29:33-6.
26. Machnik M, Hegger I, Kietzmann M, Thevis M, Guddat S, Schänzer W. Pharmacokinetics of altrenogest in horses. *J Vet Pharmacol.* 2007;30:86-90.
27. Hodgson D, Howe S, Jeffcott L, Reid S, Mellor D, Higgins A. Effect of prolonged use of altrenogest on behavior in mares. *Vet J.* 2005;169:113-15.
28. Naden J, Squires EL, Nett TM. Effect of maternal treatment with altrenogest on age at puberty, hormone concentrations, pituitary response to exogenous GnRH, oestrous cycle characteristics and fertility of fillies. *Reprod.* 1990;88(1):185-95.
29. Squires EL, Shideler RK, McKinnon AO. Reproductive performance of offspring from mares administered altrenogest during gestation. *J Eq Vet Sci.* 1989;9(2):73-6.
30. McConaghy FF, Green LA, Colgan S, Morris LH. Studies of the pharmacokinetic profile, in vivo efficacy and safety of injectable altrenogest for the suppression of oestrus in mares *Australian Vet J.* 2016;94(7):248-55.

31. Canisso IF, Gallacher K, Gilbert MA, Korn A, Schweizer CM, Bedford-Guaus SJ, et al. Preovulatory progestogen treatment in mares fails to delay ovulation. *Vet J.* 2013;197:324-8.
32. McKinnon AO, Squires EL, Carnevale EM, Hermetet MJ. Ovariectomized steroid treated mares as embryo transfer recipients and as a model to study the role of progestins in pregnancy maintenance. *Theriogenology.* 1988;29:1055-63.
33. Mcpherson ML. Treatment strategies for mares with placentitis. *Theriogenology.* 2005;64:528-34.
34. Bailey CS, Macpherson ML, Pozor MA, Troedsson MHT, Benson S, Giguere S, et al. Treatment efficacy of trimethoprim sulfamethoxazole, pentoxifylline and altrenogest in experimentally-induced equine placentitis. *Theriogenology.* 2010;74:402-12.
35. DeLuca CA, McCue PM, Patten ML, Squires EL. Effect of nonsurgical embryo transfer procedure and/or altrenogest therapy on endogenous P4 concentration in mares. *J Eq Vet Sci.* 2011;31:57-62.
36. Daels PF, DeMoraes J, Stabenfeldt GH, Hughes JP. The effect of altrenogest on the development of secondary corpora lutea. *Proceedings of the 12th ICAR; 1992; volume 4 p. 1855-7.*
37. Daels PF, Besognet B, Hansen B, Mohammed H, Odensvik K, Kindahl, H. Effect of P4 on prostaglandin F2 alpha secretion and outcome of pregnancy during cloprostenol-induced abortion in mares. *Am J Vet Res.* 1996;57(9):1331-7.
38. Palm F, Walter I, Nowotony N, Budik S, Helmreich M, Aurich C. Progestin treatment does not affect expression of cytokines, steroid receptors, oxytocin receptor, and cyclooxygenase 2 in fetal membranes and endometrium from pony mares at parturition. *Theriogenology.* 2013;79:59-68.
39. Curicio BR, Canisso IF, Pazinato FM, Borba LA, Feijo LS, Muller V, et al. Estradiol cypionate aided treatment for experimentally induced ascending placentitis in mares. *Theriogenology.* 2017;102:98-107.
40. Neuhauser S, Palm F, Ambuehl F, Möstl E, Schwendenwein I, Aurich C. Effect of altrenogest-treatment of mares in late gestation on adrenocortical function, blood count and plasma electrolytes in their foals. *Eq Vet J.* 2009;41(6):572-77.
41. Fedorka CE, Ball BA, Walker OF, Conley AJ, Corbin CJ, Lu KJ, et al. Alteration in the mare's immune system by the synthetic progestin altrenogest. doi: <https://doi.org/10.1111/aji.13145>. *Am J Repr Immunol.*

Contact address

Professor Mats HT Troedsson, Maxwell H Gluck Equine Research Center, University of Kentucky, Lexington (USA)
M.Troedsson@uky.edu

Diagnosis of subfertile mares - does the use of molecular biological methods make sense?

Katharina Weber¹, Karen Wagener², Miguel Blanco³, Marc Stevens⁴, Stefan Bauersachs¹, Heinrich Bollwein¹

¹Clinic of Reproductive Medicine, Vetsuisse Faculty, University of Zurich (Switzerland); ²University Clinic for Ruminants, Vetmeduni Vienna (Austria); ³Gestüt Lewitz (Germany); ⁴Institute for Food Safety and Hygiene, Vetsuisse Faculty, University of Zurich (Switzerland)

Introduction

The causes of subfertility are multifactorial and include factors related to the stallion, mare and breeding management. Infectious endometritis is one of the most common reasons for fertility problems in mares (1). Endometritis is associated with conception failure, early embryonic death and mid-gestational abortion (2). In contrast to cows, mares develop endometritis rather during the post-breeding than during the postpartum period. Clinical signs of endometritis include intrauterine fluid, excessive pattern of endometrial edema, vaginal discharge, abnormal estrous cycles and cervicitis (2,3). However, not all mares with endometritis show clinical signs and therefore, especially in mares with repeated breeding attempts, laboratory diagnostic methods are additionally used to assess the extent of uterine bacterial infection and inflammation (4-6). Although the histological examination of uterine biopsy samples was considered in many studies as the gold standard for the diagnosis of endometritis, in practice a double-guarded uterine swab for bacteriological culture and a cytobrush sample for cytology are taken, because it is less invasive than the biopsy and less time consuming than histological examination (7-10). However, many bacteria are difficult to cultivate and are therefore not detectable by classical bacteriology (11,12). Moreover, some bacteria, e.g. *E. coli*, are less associated with neutrophils at the cytological examination than other bacteria, such as *Streptococci* (1). Therefore, often discrepancies exist between the results of the gynecological, cytological and bacteriological examination. Moreover, clinicians are often confronted with false negative examination results. Leblanc and Causey reported about "hidden" cases of endometritis in mares without clinical signs of endometritis but impaired fertility and introduced for this hidden pathology the term subclinical endometritis (2). It seems likely that underlying mechanisms for unexplained subfertility can be found at the molecular level. Recently, it has been shown that mares susceptible for persistent breeding-induced endometritis show different expression pattern of genes associated with innate immunity even before breeding (13). Comprehensive studies of the endometrial transcriptome in mares elucidated a set of candidate genes involved in crucial reproductive events, e.g. recognition of pregnancy or trophoblast development (14-16). The findings of the latter studies support detailed studies on the uterine gene expression in fertile and subfertile mares. Therefore, the objective of the study was to characterize the uterine transcriptome and bacterial microbiome in fertile and subfertile mares before breeding and to identify RNA and DNA markers for the prediction of subfertility.

Materials and Methods

Uterine cytobrush and swab samples were taken from 57 standard bred mares during estrus one to three days before artificial insemination (AI) at a commercial stud farm in Germany during the breeding season 2018. The swab was taken to exclude mares with intrauterine pathogenic bacteria and a cytobrush sample was used for cytological examination. Only mares with no clinical signs of endometritis were included. According to their breeding history 2018, the mares were initially grouped into mares having their first insemination (First breeder, FB) and in mares that failed to

conceive after at least two consecutive artificial inseminations (Repeat breeder, RB). Sixteen days after ovulation, or 14 days in case of double ovulation, pregnancy diagnosis was performed by ultrasound and the mares were finally grouped into FB and RB pregnant (FB-P, RB-P) and not pregnant (FB-N, RB-N). FB-P were considered fertile (n=19) and RB-NP were considered subfertile (n=12). The second cytobrush sample was used for DNA and RNA extraction. From a subset of animals of the groups FB-P (n=11) and RB-NP (n=11), Illumina RNA sequencing was performed to identify differentially expressed mRNAs between fertile and subfertile mares. In addition, the DNA of the mares in the four study groups was pooled (FB-P, FB-N, RB-P and RB-N, respectively) for 16S rRNA gene amplicon full-length sequencing using PacBio single-molecule real-time sequencing.

Results

In total, 114 genes were differentially expressed between fertile and subfertile mares (false discovery rate = 10 %). Ninety-eight genes were down- and 16 genes were up-regulated in subfertile mares compared to fertile mares. The downregulated genes were related to 'Extracellular matrix (ECM)' (including 'ECM-receptor interaction', 'focal adhesion' and 'PI3K-Akt signaling pathway'), 'vasculature development', 'guanyl exchange factors activity', 'hydrolase activity and 'adaptive and innate immune response'. Differentially expressed genes upregulated in subfertile mares were related to 'transmembrane transport activity'. The results suggest that these pathways might play an important role for fertility. The equine uterine microbiota was characterized by four main phyla, *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* and *Actinobacteria*. The relative abundance of *Actinobacteria* was higher in mares not becoming pregnant (FB-N, RB-N) compared to mares becoming pregnant. The relative abundance of *Bacteroidetes* were enriched and relative abundance of *Firmicutes* were reduced in the fertile horses (FB-P) compared to the other groups. The diversity and complexity of the microbiome, expressed by the Chao1 and ACE index, was higher in fertile compared to the subfertile mares.

Discussion and conclusion

Our results revealed significant differences between fertile and subfertile mares in both the uterine transcriptome and uterine bacterial microbiome. Differential gene expression of genes related to the immune response, extracellular matrix and vascular development were identified between fertile and subfertile mares. Identified pathways have important functions for reproductive events, such as early embryo-maternal communication (14). The use of next generation sequencing elucidated the microbiome composition in fertile and subfertile mares. These results indicate that rather the composition and diversity of the uterine bacterial microbiome than the presence or absence of a single bacterial species has an effect on the fertility. To confirm, how specific transcriptome conditions affect fertility, sequencing results have to be validated by quantitative real-time PCR for the top-ranked differentially expressed genes. In conclusion, the study represents a step forward towards the use of molecularbiological methods for the diagnosis of subfertility in mares. In future, RNA and DNA marker could be used as diagnostic aid in addition to gynecological examination and routine laboratory diagnostic methods.

References

1. Riddle WT, LeBlanc MM, Stromberg AJ. Relationships between uterine culture, cytology and pregnancy rates in a Thoroughbred practice. *Theriogenology*. 2007;68(3):395-402.
2. Leblanc M, Causey R. Clinical and subclinical endometritis in the mare: Both threats to fertility. *Reprod Domest Anim*. 2009;44(SUPPL. 3):10-22.
3. Diel de Amorim M, Gartley CJ, Hill A, Scholtz EL, Chenier TS, Foster RA, et al. Comparison of Clinical Signs, Endometrial Culture, Endometrial Cytology, Uterine Low-Volume Lavage, and Uterine Biopsy and Combinations in the Diagnosis of Equine Endometritis. *J Equine Vet Sci*. 2016;44:54-61.

4. Card C. Post-breeding inflammation and endometrial cytology in mares. *Theriogenology*. 2005;64(3):580-8.
5. Cocchia N, Paciello O, Auletta L, Uccello V, Silvestro L, Mallardo K, et al. Comparison of the cytobrush, cottonswab, and low-volume uterine flush techniques to evaluate endometrial cytology for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. *Theriogenology*. 2012;77(1):89-98.
6. LeBlanc MM. Advances in the diagnosis and treatment of chronic infectious and post-mating-induced endometritis in the mare. *Reprod Domest Anim*. 2010;45(SUPPL. 2):21-7.
7. Nielsen JM, Troedsson MH, Pedersen MR, Bojesen AM, Lehn-Jensen H, Zent WW. Diagnosis of Endometritis in the Mare Based on Bacteriological and Cytological Examinations of the Endometrium: Comparison of Results Obtained by Swabs and Biopsies. *J Equine Vet Sci*. 2010;30(1):27-30.
8. LeBlanc MM, Magsig J, Stromberg AJ. Use of a low-volume uterine flush for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. *Theriogenology*. 2007;68(3):403-12.
9. Buczkowska J, Kozdrowski R, Nowak M, Raś A, Staroniewicz Z, Siemieniuch MJ. Comparison of the biopsy and cytobrush techniques for diagnosis of subclinical endometritis in mares. *Reprod Biol Endocrin*. 2014;12(1).
10. Christoffersen M, Brandis L, Samuelsson J, Bojesen AM, Troedsson MHT, Petersen MR. Diagnostic double-guarded low-volume uterine lavage in mares. *Theriogenology*. 2015;83(2):222-7.
11. Singh J, Behal A, Singla N, Joshi A, Birbian N, Singh S, et al. Metagenomics: Concept, methodology, ecological inference and recent advances. *Biotechnol J*. 2009;4(4):480-94.
12. Ferris RA. Endometritis: Diagnostic Tools for Infectious Endometritis. *Vet Clin N Am-Equine*. 2016;32(3):481-98.
13. Marth CD, Young ND, Glenton LY, Noden DM, Browning GF, Krekeler N. Deep sequencing of the uterine immune response to bacteria during the equine oestrous cycle. *BMC Genomics*. 2015;16(1).
14. Scaravaggi I, Borel N, Romer R, Imboden I, Ulbrich SE, Zeng S, et al. Cell type-specific endometrial transcriptome changes during initial recognition of pregnancy in the mare. *Reprod Fertil Dev*. 2019;31(3):496-508.
15. Klein C. Novel equine conceptus-endometrial interactions on Day 16 of pregnancy based on RNA sequencing. *Reprod Fertil Dev*. 2016;28(11):1712-20.
16. Read JE, Cabrera-Sharp V, Offord V, Mirczuk SM, Allen SP, Fowkes RC, et al. Dynamic changes in gene expression and signalling during trophoblast development in the horse. *Reproduction*. 2018;156(4):313-30.

Contact address

Stefan Bauersachs and Heiner Bollwein, Clinic of Reproductive Medicine, Vetsuisse Faculty,
University of Zurich (Switzerland)
stefan.bauersachs@uzh.ch
hbollwein@vetclinics.uzh.ch

Characteristics of equine endometrial *Streptococcus* infections

Jesper Møller Nielsen

Ansager Hestehospital, Ansager (Denmark)

Endometritis is one of the most common causes for infertility in mares. Infection with β -hemolytic *streptococcus* is in several studies described as the most common bacterial isolate from mares suffering from endometritis (1,2).

A recent study has shown that the *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus* isolated from the endometrium of mares predominantly belongs to a distinct genetic group (3).

Harvesting material from the uterine lumen and the endometrium for further diagnostic procedures in the laboratory has been performed for nearly 100 years. These techniques have over the years been refined from a simple sterile cotton swab to more invasive techniques such as endometrial biopsy, uterine lavage and a cytobrush. Several studies have shown that especially β -hemolytic *streptococcus* species are common isolates to be found from the endometrium, as well as the harvested tissue has been used for the diagnosis of an infection by cytological and histological examination (2,4). A negative influence of *streptococcus* infection on the chances of pregnancy and the ability of carrying a foal to term has been described in a paper also showing the need to use more invasive techniques such as endometrial biopsy for improving the sensibility of the diagnosis in practice (5).

The more invasive techniques, needed for the diagnosis of *streptococcus* infections in the endometrium, have produced evidence by Fluorescent In Situ Hybridization (FISH) technique and confocal microscopy, that the infection resides deeper in the tissue, as well as the ability of β -hemolytic *streptococcus* to enter a dormant stage in the endometrium has been hypothesized (6).

Potential activation of a dormant *streptococcus* infection in the endometrium of the mare with a proprietary substance has been described (7). Whether this activation is due to a characteristic of the *streptococcus* themselves or to external factors in the uterus and the endometrium however has to be further investigated.

A higher prevalence of β -hemolytic *streptococcus* isolated from sexually active compared to sexually rested mares has been shown (8). This could potentially be because β -hemolytic *streptococcus* are dormant in the endometrium of the mare during the winter anestrus period and are activated by the manipulation of the sexual organs during the breeding season.

A study from 2017 has by field emission scanning electron microscopy (FESEM) shown that *Streptococcus equi subspecies zooepidemicus* are able to invade equine endometrial epithelial cells and survive intracellular in a dormant state (9).

If a bacterial infection in the endometrium was identified and treated, no significant difference in pregnancy percent could be detected between treated and non-treated group in a study including 389 mares and 789 estrus cycles (10). In other words: If you identify a problem and treat it, you have a fair chance of getting a good result.

The possibilities for treatment, antibiotic or non-antibiotic are increasing. The main objective for the treating veterinarian however always should be only to choose treatment based on a thorough clinical examination and diagnosis. It is always important to bear in mind, that the best treatment of infertility still is semen. Eighty percent of all mares get pregnant without any other treatment (11).

References

1. Rickets SW, Young A, Medici EB. Uterine and clitoral cultures. In: McKinnon, publisher. Equine Reproduction. Lea and Febiger; 1990. p. 234-45.

2. Nielsen JM. Endometritis in the mare: A diagnostic study comparing cultures from swab and biopsy. *Theriogenology*. 2005;64(3):510-8.
3. Rasmussen CD, Haugaard MM, Petersen MR, Nielsen JM, Pedersen HG, Bojesen AM. *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus* isolates from equine infectious endometritis belong to a distinct genetic group. *Vet Research*. 2013;44(1):26.
4. Nielsen JM, Troedsson MH, Petersen MR, Bojesen AM, Lehn-Jensen H, Zent WW. Diagnosis of endometritis in the mare based on bacteriological and cytological examinations of the endometrium. Comparison of results obtained by swab and biopsy. *J of Eq Vet Sci*. 2010;30(1):27-30.
5. Nielsen JM, Nielsen FH, Petersen MR. Diagnosis of equine endometritis - Microbiology, cytology and histology of endometrial biopsies and the correlation to fertility. *Pferdeheilkunde*. 2012;1:8-13.
6. Petersen MR, Nielsen JM, Lehn-Jensen H, Bojesen AM. *Streptococcus Equi subspecies Zooepidemicus* resides deep in the chronically infected endometrium of the mare. *Clinical Theriogenology*. 2009;1(1):161-7.
7. Petersen MR, Skive B, Christoffersen M, Lu K, Nielsen JM, Troedsson MHT, et al. Activation of persistent *Streptococcus equi subspecies Zooepidemicus* in mares with subclinical endometritis. *Vet Microbiol*. 2015;179:19-125.
8. Nielsen JM. Equine endometrial streptococcal infections - Prevalence of isolates from sexually rested and sexually active mares. Poster at Havemeyer Symposium; 2015; Helsingør (Denmark).
9. Skive B, Rohde M, Molinari G, Braunstein TH, Bojesen AM. *Streptococcus equi subsp. Zooepidemicus* invades and survives in epithelial cells. *Front Cell Infect Microbiol*. 2017;465(7):105-19.
10. Nielsen JM, Bock TSK, Ersbøll AK. Factors associated with fertility in horses in a Danish equine practice after artificial insemination with frozen-thawed stallion semen. *Anim Reprod Sci*. 2008;107(3):336-37.
11. Troedsson MHT, Nielsen JM. Non-antibiotic treatment of equine endometritis. *Pferdeheilkunde*. 2018;34:17-22.

Contact address

Jesper Møller Nielsen, DVM, specialist in equine reproduction, Ansager (Denmark)
jazz.miller@newmail.dk

Pathogenesis of chronic endometrial fibrosis – What do we know?

Ferreira-Dias Graca¹, Rebordão MR^{1,2}, Pinto-Bravo P², Szóstek-Mioduchowska AZ³, Skarzynski DJ³

¹Physiology Laboratory, Centre for Interdisciplinary Research in Animal Health (CIISA), Faculty of Veterinary Medicine, University of Lisbon (Portugal); ²Coimbra College of Agriculture, Polytechnic Institute of Coimbra (Portugal); ³Institute of Animal Reproduction and Food Research of PAS, Olsztyn (Poland)

Abstract

While there is a relationship between endometrial fibrosis severity and infertility in the mare, the link between inflammation of the endometrium and endometrosis development is not well documented. Endometrosis is a degenerative condition in the mare's endometrium, with irreversible changes in the endometrial glands and the surrounding stroma, with collagen fibers deposition. Several inflammatory players, such as neutrophil extracellular traps (NETs), prostaglandins and cytokines may be involved in endometrosis establishment and pathogenesis. As other fibroproliferative diseases, there might be an involvement of epigenetic changes, assessed by the transcription of methyltransferases (DNMT1, DNMT3A, DNMT3B), in the mare's endometrial collagen deposition and fibrosis establishment. Unravelling the pathogenesis of this condition and aiming at fibrosis disruption using inhibitors of proteases found in NETs might be a therapeutic means to pursue.

Key words

endometrosis, mare, chronic endometrial fibrosis, fibrosis, NETs, prostaglandins, cytokines, epigenetics

Grant support

Competitive grants (PTDC/CVT-REP/4202/2014; Bilateral cooperation Grant Portugal-Poland 2019-2020) from FCT, Portugal; and MAESTRO grant (No2011/02/A/NZ5/00338) from the National Science Center, Poland.

Despite the extensive research on mare endometrium pathology, a thorough knowledge on the pathogenesis of chronic endometrial fibrosis is needed. This degenerative condition characterized by irreversible changes in the endometrial glands and the surrounding stroma, with collagen fibers deposition in the extracellular matrix (ECM), is known as endometrosis (1,2). Endometrotic areas depict a different expression of the immunomodulatory enzyme indoleamine 2,3-dioxygenase, as well as altered cell differentiation suggesting functional and immunological disturbances (3,4). In addition, as mares age, the presence of fibrosis in mare endometrium is also coupled to fibrosis in the oviduct (5).

While there is a relationship between endometrial fibrosis and infertility in the mare, the mechanisms linking endometrium inflammation and endometrosis development still need extensive investigation (6). Fibrogenesis involves molecular and immunological mechanisms that transform quiescent fibroblasts into active myofibroblasts that produce ECM components (7). At breeding a physiological endometritis occurs in mares, characterized by cytokine release and by the arrival of neutrophils into the uterus, vital for the phagocytosis of bacteria and the removal of excessive spermatozoa and cell debris (8,9). Also, in the mare endometrium, neutrophils form neutrophil extracellular traps (NETs) (10). They are DNA strands surrounded by nuclear and cytoplasmic

proteins that snare and kill bacteria (11). Proteases found in NETs (elastase - ELA, myeloperoxidase - MPO and cathepsin - CAT) increase the in vitro production of collagen type 1 (COL1), characteristic of fibrosis, by mare endometrial explants (12). Thus, while neutrophils act as a first line of defense, a chronic inflammation may perpetuate tissue injury by NETs release, activating fibrogenesis. Moreover, inhibition of fibrotic ELA action in the mare's endometrium with sivelestat might be a therapeutic means to fight endometrosis (13).

Various degrees of inflammation and fibrosis influence gene expression of the pro-inflammatory cytokines IL-1 α and IL-1 β and their receptors in the equine endometrium (14). There is also an association between IL-6 and IL-10 and inflammatory cells in the mare's endometrium histopathological lesions (15). Besides, mare endometrial fibroblasts, when stimulated in vitro by TGF- β 1 may participate in myofibroblast differentiation, ECM production and increase endometrosis severity (16).

Prostaglandins (PG) are among the multiple possible players implicated in inflammatory processes as well as fibrogenesis. In the mare's endometrium, PGE₂ may protect against mare endometrial COL1 production induced by proteases present in NETs through its receptor EP2 (17). In contrast, enhanced production of COL1 and PGF_{2 α} -FP receptor (FP) transcripts occurred in all endometrial categories (18). In fact, in endometrosis transcript levels of PG synthases and PG production are altered, which might be involved in estrous cycle disruption and early embryo loss (19).

Inflammation and fibroproliferative diseases may be modulated by epigenetic changes. DNA methylation is one of the means to evaluate epigenetics alterations, through the transcription of DNA methyltransferases (DNMT1, DNMT3A, DNMT3B). Therefore, we advocate that epigenetic mechanisms could be involved in equine endometrial collagen deposition and endometrosis pathogenesis (20).

Unravelling the pathogenesis of chronic endometrial fibrosis and aiming at fibrosis disruption using inhibitors of proteases found in NETs might be a therapeutic means to pursue, for the improvement of the mare's reproductive performance.

References

1. Kenney RM. The aetiology, diagnosis, and classification of chronic degenerative endometritis. Workshop on equine endometritis. *Equine Vet J.* 1992;125:186.
2. Hoffmann C, Ellenberger C, Costa Mattos R, Aupperle H, Dhein S, Stief B, et al. The equine endometrosis: New insights into the pathogenesis. *Anim Reprod Sci.* 2009;111:261-78.
3. Schöninger S, Gräfe H, Richter F, Schoon H-A. Expression of indoleamine 2,3-dioxygenase 1 as transcript and protein in the healthy and diseased equine endometrium. *Res Vet Sci.* 2018;118:278-87.
4. Minkwitz C, Schoon H-A, Zhang Q, Schöninger S. Plasticity of endometrial epithelial and stromal cells - A new approach towards the pathogenesis of equine endometrosis. *Reprod Domest Anim.* 2019;54(6):835-45.
5. Pinto-Bravo P, Rebordão MR, Amaral A, Fernandes C, Cuello C, Parrilla I, et al. Is mare endometrosis linked to oviduct fibrosis? *Pferdeheilkunde.* 2018;1:43-6.
6. Kenney RM. Cyclic and pathologic changes of the mare endometrium as detected by biopsy, with a note on embryonic death. *JAVMA.* 1978;172:241-62.
7. Wynn TA. Common and unique mechanisms regulate fibrosis in various fibroproliferative diseases. *J Clin Invest.* 2007;117:524-29.
8. Troedsson MHT. Breeding-induced endometritis in mares. *Vet Clinics North America: Equine Practice.* 2006;22:705-12.
9. Christoffersen M, Woodward E, Bojesen AM, Jacobsen S, Petersen MR, Troedsson MHT, et al. Inflammatory responses to induced infectious endometritis in mares resistant or susceptible to persistent endometritis. *BMC Vet Res.* 2012;8:41.

10. Rebordão MR, Carneiro C, Alexandre-Pires G, Brito P, Pereira C, Nunes T, et al. Neutrophil Extracellular Traps formation by bacteria causing endometritis in the mare. *J. Reprod Immunol.* 2014;106:41-9.
11. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science.* 2004;303:1532-5.
12. Rebordão MR, Amaral A, Lukasik K, Szóstek A, Pinto-Bravo P, Galvão A, et al. Constituents of neutrophil extracellular traps induce fibrosis formation in mare endometrium. *Theriogenology.* 2018;113:8-18.
13. Amaral A, Fernandes C, Lukasik K, Szóstek-Mioduchowska A, Baclawska A, Rebordão MR, et al. Elastase inhibition affects collagen transcription and prostaglandin secretion in mare endometrium during the estrous cycle. *Reprod Domest Anim.* 2018;53(2):66-9.
14. Szóstek AZ, Lukasik K, Ferreira-Dias GM, Skarzynski DJ. Impairment of the interleukin system in equine endometrium in the course of endometrosis. *Biol Reprod.* 2013;89(4):79:1-13.
15. Buarque de Holanda AG, da Silva Leite J, Consalter A, Coelho da Silva KVG, Santos Batista BP, Monteiro Fonseca AB, et al. Expression of interleukins 6 and 10 and population of inflammatory cells in the equine endometrium: diagnostic implications. *Mol Biol Rep.* 2019;46(2):2485-249.
16. Szóstek-Mioduchowska AZ, Lukasik K, Skarzynski DJ, Okuda K. Effect of transforming growth factor β 1 on α -smooth muscle actin and collagen expression in equine endometrial fibroblasts. *Theriogenology.* 2019;124:9-17.
17. Rebordão MR, Amaral A, Lukasik K, Szóstek-Mioduchowska A, Galvão A, Skarzynski DJ, et al. Impairment of anti-fibrotic PGE₂ pathway might influence neutrophil extracellular traps-induced fibrosis in mare endometrium. *Dom Animal Endocrinol.* 2019;67:1-10.
18. Rebordão MR, Amaral A, Lukasik K, Szóstek A, Pinto-Bravo P, Galvão A, et al. Prostaglandin environment may favour collagen deposition in mare endometrium when challenged by neutrophil extracellular traps proteases. *Proceedings of the 2nd International Conference on Tissue Repair, Regeneration, and Fibrosis conference; 2018; Crete (Greece).* p. 105.
19. Szóstek AZ, Siemienuch MJ, Galvão AM, Lukasik K, Ferreira-Dias G, Skarzynski DJ. mRNA transcription of prostaglandin synthases and their products in the equine endometrium in the course of fibrosis. *Theriogenology.* 2012;78:768-76.
20. Alpoim-Moreira J, Fernandes C, Rebordão MR, Amaral A, Pinto-Bravo P, Bliebernicht M, et al. Collagens and DNA methyltransferases in mare endometrosis. *Reprod Domest Anim.* 2019. In press.

Further references

21. LeBlanc MM, Causey RC. Clinical and subclinical endometritis in the mare: both threats to fertility. *Reprod Domest Anim.* 2009;44:10-22.

Contact address

Prof. Graça Ferreira-Dias, Faculty of Veterinary Medicine, Av. Universidade Técnica (Portugal)
gmldias@fmv.ulisboa.pt

Current vitrification techniques for equine embryos

Sandra Wilsher, Florencia Rigali, WR (Twink) Allen

Sharjah Equine Hospital, Sharjah (UAE)

Introduction

Currently, there are two existing techniques to cryopreserve equine embryos; slow freezing and vitrification. Slow freezing typically uses low concentrations of cryoprotectant (CPA) and embryos are frozen in semen straws using a programmable machine to ensure a controlled rate of freezing in an attempt to avoid intracellular ice formation and structural damage to the embryo. Vitrification uses higher concentrations of cryoprotectant and rapid cooling rates to transform the vitrification solution around and within the cells into a glassy state without ice crystal formation (1). Embryos are typically vitrified in small volumes of vitrification medium on specialist cryo-devices. This paper focuses on vitrification, rather than slow freezing of equine embryos.

Vitrification has been reported to have several advantages over slow-freezing, which are detailed in Table 1 (2). However, despite the suggested benefits, this must be tempered with possible variables that can occur during vitrification which can influence the effectiveness of the technique (Table 2).

Table 1: Potential benefits of vitrification

1	Direct contact between cells/tissue and liquid nitrogen (but only if using an opened system)
2	No ice crystallisation
3	Utilises higher concentrations of CPA than slow freezing, which allows shorter exposure times to the CPA (but shorter exposure times are necessary because of the toxicity of the CPA)
4	Rapid vitrification/warming
5	Small volume vitrification significantly increases the cooling rate
6	Cooling rates of ~15 000 to 30 000°C/min can be achieved
7	Minimises osmotic injuries
8	Reduces the time of cryopreservation – taking minutes not hours
9	Very simple protocols
10	Eliminates the cost of expensive programmable freezing equipment (but for large equine blastocysts a micromanipulator is needed)

CPA = cryoprotectant

Adapted from Liebermann et al (2)

Vitrification of small equine embryos

Initial studies to evaluate the viability of equine embryos following vitrification were undertaken in vitro. Chaves et al measured the percentage of live/dead cells following vitrification of embryos using varying solutions and protocols (3). They found that 40 % of embryos suffered intermediate damage and 46 % were considered viable after warming. A second study compared conventional, slow-freezing in straws to vitrification of small embryos ($\leq 300 \mu\text{m}$) in open pulled straws (OPS) or cryoloops. Embryo development in culture following thawing or warming showed no difference between the methods (4). Other workers used a combination of 40 % ethylene glycol, 18 % Ficoll

and 0.3 M sucrose as the vitrification solution to compare developmental competence in vitro on the basis of embryo size (5). They found that 25 % of embryos > 300 µm vs. 81 % of those ≤ 300 µm developed in vitro after vitrification and warming, demonstrating that larger embryos did not survive vitrification as well as smaller ones. The same workers also reported the first 2 pregnancies (viable at 60 days) from the transfer of 5 vitrified embryos (6).

Table 2: Factors that can profoundly influence the effectiveness of vitrification

1	Type and concentration of cryoprotectant (almost all cryoprotectants are toxic)
2	Media used as a base medium (holding media)
3	Temperature of the vitrification solution at exposure
4	Length of time cells/tissue are exposed to the final cryoprotectant before being plunged into liquid nitrogen
5	Variability in the volume of cryoprotectant solution surrounding the cells/tissue
6	Device used for vitrification (influences size of the LN ₂ vapour coat and cooling rate)
7	Technical proficiency of the embryologist ('the learning curve')
8	Quality and developmental stage of the cell/tissue (very pertinent to equine embryos)
9	Direct contact of the LN ₂ and the vitrification solution containing the biological material can be a source of contamination (sterile LN ₂ should be used for cooling or storage or closed vitrification devices)

CPA = cryoprotectant

Adapted from Liebermann et al (2)

The first authors to demonstrate high success rates vitrifying equine embryos using a protocol that was commercially practical were Eldridge-Panushka et al (7). They exposed embryos in a 3-step protocol to vitrification solutions containing increasing concentrations of ethylene glycol and glycerol (EG/G), with the final solution containing 3.4 M G and 4.6 M EG. Embryos were loaded into 0.25 mL straws before being placed in a goblet suspended in LN₂ for 1 min prior to plunging into LN₂; embryo warming was accomplished in a 2-step dilution protocol. Transfer of 6 morulae or early blastocysts ≤ 300 µm resulted in 4 pregnancies (4/6, 67 %), but no pregnancies were obtained with embryos > 300 µm. Adaptation of the protocol to allow for the dilution of cryoprotectants within the straw when thawing and direct transfer into the recipient mare yielded a 62 % (16/26) pregnancy rate compared to 45 % (10/22) for step dilution in vitro prior to transfer.

This research was translated into a commercial vitrification kit. Embryos must be carefully selected when using such kits to optimise survival rates. Hence, they need to be ≤ 250 µm in diameter and, in the case of blastocysts, the zona pellucida should be no less than half the normal thickness. Despite the challenges of obtaining such embryos acceptable pregnancy rates in the field have been reported using commercial vitrification kits (e.g. 59 %; 38/64) (8).

Vitrification of large equine embryos

Since embryo size is a major factor in the success of vitrification and since most commercial programmes prefer to collect embryos on Day 7 or 8 after ovulation, when mean embryo diameters are 406 and 1132 µm respectively, there is a practical desire to cryopreserve large embryos (> 300 µm) (9). However, this has proved challenging.

Why are larger equine embryos difficult to freeze?

Poor pregnancy rates following cryopreservation of large embryos are believed to be, in part, due to the large size of the blastocoele cavity that develops as the equine embryo expands after entering the uterus on day 5.5-6 after ovulation (10). This increased quantity of fluid increases the likelihood of cryoinjury, in particular the formation of ice crystals, due to incomplete dehydration and insufficient uptake of cryoprotectant. Equine embryos uniquely present another problem in relation to freezing; namely, the development of the equine blastocyst capsule that envelops the blastocyst shortly after it begins to blastulate. This mucin-like glycoprotein coating is believed to inhibit the passage of cryoprotectants into the embryo (11-15).

Overcoming the problems of large embryo vitrification

Although some early reports in the literature of the vitrification and subsequent transfer of embryos > 300 µm exist, none of the recipient mares they were transferred to established a pregnancy (7,16). Campos-Chillon et al, however, did obtain pregnancies using a protocol of increasing concentrations of EG in the vitrification solutions, with embryos vitrified in 0.25 mL straws and plunged directly into LN₂ (17). After warming transferred embryos gave a 35 % (6/17) pregnancy rate although no embryo > 400 µm survived.

Real progress in vitrifying large embryos was made in 2010 when Choi et al punctured the capsule and collapsed the blastocyst when undertaking trophoblast biopsies (18); these embryos formed pregnancies when transferred to recipient mares. This led the authors to subsequently biopsy and aspirate the blastocoele fluid prior to vitrifying expanded blastocysts (407-565 µm), which resulted in a pregnancy rate of 71 % (5/7) (19). Diaz et al then reported 5 of 6 (83 %) mares pregnant following transfer of expanded blastocysts (448-1168 µm) that had been vitrified after puncture and aspiration of ≥ 95 % of their blastocoele fluid (20). Similarly, a pregnancy rate of 70 % (7/10) was reported for blastocysts (353-571 µm) that were punctured and aspirated prior to vitrification (21).

The afore mentioned studies all used different protocols to puncture and vitrify the embryos, although they all removed the majority of the blastocoele fluid prior to vitrification. This step would therefore appear to be essential to achieve successful vitrification, presumably as the decrease in the volume of the embryo permits vitrification without ice crystal formation. Penetration of the cryoprotectants may also be aided by breaching the capsule. Furthermore, the improvements in pregnancy rates are likely to be attributable, in part, to the use of minimal volume vitrification. Small volumes of vitrification medium allow for increases in cooling and warming rates with lower cryoprotectant concentrations and they reduce the detrimental effects of toxicity and osmotic shock to the cells (22,23). Vitrification carrier systems using minimal volumes have been used to good effect to vitrify human embryos and similar carrier systems, both hand-made and commercial, have been utilised in the studies described above to vitrify collapsed, equine, expanded blastocysts (19-21,24).

Is complete removal of the blastocoele fluid essential for successful vitrification?

The present authors carried out a study to determine if complete collapse of the blastocoele by aspiration was essential for the survival after warming of vitrified equine blastocysts ≥ 300 µm (25). The embryos were recovered on Day 7 or 8 post ovulation and around half of them were punctured and aspirated using a micromanipulator prior to being vitrified (Figure 1), whereas the other half were punctured but not aspirated. The collapsed embryos were placed in an equilibration medium (EM; HM + 7.5 % ethylene glycol (EG) and 7.5 % dimethyl sulfoxide (DMSO)) before being moved to a vitrification solution (VS; HM + 0.5 M sucrose + 15 % EG + 15 % DMSO) after which they were loaded onto a Cryolock device in a minimum volume so that only the embryo in a thin film of VS remained. The Cryolock was then capped and plunged into LN₂. The embryos were subsequently warmed by uncapping the Cryolock and immediately plunging the tip of the device into 1 mL of

Warming Solution 1 (WS1; HM + 1M sucrose) pre-warmed to 38°C. After 30 sec the embryo was moved to a droplet of Warming Solution 2 (WS2; HM + 0.5M sucrose) for 4 min at room temperature, before a final move to a Holding Medium prior to transfer to a recipient mare that had ovulated 5 or 6 days previously. For the embryos that were punctured only (mean \pm SEM diameter $646.4 \pm 61.7 \mu\text{m}$; range 300-1300 μm) 10 of the 22 (45 %) transferred resulted in a pregnancy; whereas for the embryos that were punctured and aspirated, the pregnancy rate was 75 % (21/28; mean \pm SEM diameter $754.8 \pm 59.1 \mu\text{m}$; range 400-1600 μm). This difference in pregnancy rate approached significance ($p = 0.061$). However, when embryos were divided on the basis of size there was no advantage to aspiration in those $> 550 \mu\text{m}$ (aspirated 80 % (8/10) vs. non-aspirated 75 % (9/12); $p = 0.816$), whereas there was a clear advantage of aspiration in embryos $\geq 550 \mu\text{m}$ (aspirated 72 % (13/18) vs. non-aspirated 10 % (1/10); $p = 0.006$). For all the embryos that resulted in a pregnancy, the mean \pm SEM diameter of those in the non-aspirated group was significantly lower than those in the aspirated group (478.0 ± 53.3 vs. $663.6 \pm 40.2 \mu\text{m}$, respectively; $p = 0.022$). The largest embryo that formed a pregnancy in the non-aspirated group was 900 μm whereas in the aspirated group it was 1200 μm . The 5 embryos that did not result in a pregnancy after warming and transfer in the large aspirated group were all $\geq 1000 \mu\text{m}$.

Hence, using the current vitrification methods, puncture of the blastocyst capsule is likely to be essential and aspiration of the blastocoele fluid offers higher survival rates for embryos $\geq 550 \mu\text{m}$.

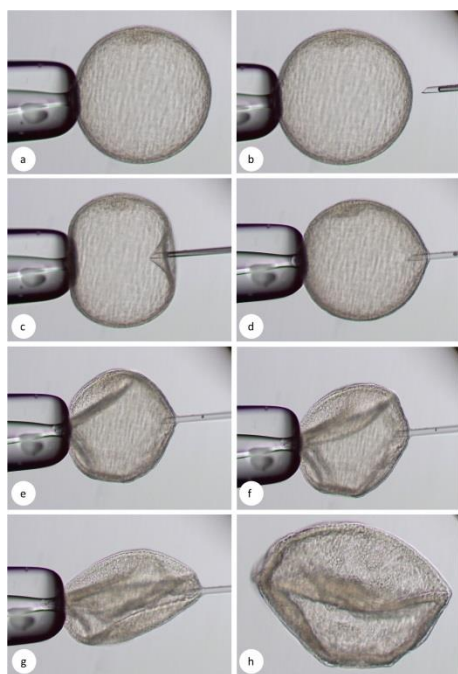


Figure 1: (a) A horse embryo (630 μm) positioned on the holding pipette with the inner cell mass at 12 o'clock. (b-c) The 30 μm needle is introduced through the capsule and trophoblast. (c-g) The maximum amount of blastocoele fluid is aspirated from the embryo. (h) The aspirated embryo in holding medium prior to vitrification.

Improving vitrification of equine embryos

The simplicity of the initial vitrification methods for smaller embryos has not been matched for larger embryos, chiefly due to the need for a micromanipulator to undertake the puncture and aspiration (7). Micromanipulators are expensive and they require a considerable degree of operator competence to achieve good results. Successful collapse of the blastocoele cavity of human

embryos prior to vitrification has been reported without the use of a micromanipulator. Methods include a micro-needle, laser-pulse, a 29-G needle, micropipetting, and osmotic shock (26-34). Two studies have reported manual puncture of equine embryos. Guignot et al manually punctured 28 expanded blastocysts (166-777 μm in diameter) and their subsequent collapse was achieved by placing them in medium containing increasing sucrose concentrations prior to vitrification on OPS (35). Twenty-five embryos were warmed, and the authors reported a survival rate of 96 % (24/25) after 24 hrs in culture. Manual collapse was also reported by Ferris et al using an 25G hypodermic needle to puncture 15 expanded horse blastocysts (mean diameter 663 μm) prior to vitrification (36); this resulted in 7/15 (46 %) pregnancies after warming and transfer. The present authors, however, have failed to achieve any pregnancies when puncturing embryos with needles of > 50 μm diameter.

How big a hole in its capsule and trophoblast an embryo can tolerate and still survive is a question worthy of further study. Studies reporting acceptable pregnancy rates following vitrification of large embryos also vary in the type of CPA used and this is another area in which further work would be beneficial to optimising vitrification.

Finally, vitrification carrier systems vary physically, but they also differ in whether they are used 'open' or 'closed'. In open systems, the embryo comes into direct contact with LN_2 to allow rapid cooling rate of $-20,000 - 30,000^\circ\text{C}/\text{min}$ which favours good vitrification. In contrast, in a closed system the embryos are sealed within the device before being plunged into the LN_2 , which potentially reduces the cooling rate. Due to the potential hazards of disease transmission and contamination from LN_2 there is a move towards closed systems in human IVF laboratories, with some countries already having banned open systems (24,37). Hence, it is likely that the authorities that regulate the export of equine embryos will likewise favour the closed system.

Conclusions

Vitrification of large equine blastocysts is nowadays possible with acceptable pregnancy rates. Optimising the protocols and making them easier to accomplish without the need for costly equipment, will help cryopreservation to be used increasingly as a valuable tool in modern reproductive technologies and will increase the export market for equine embryos.

References

1. Hunt CJ. Cryopreservation: Vitrification and Controlled Rate Cooling. *Methods Mol Biol.* 2017;1590:41-77.
2. Liebermann J, Nawroth F, Isachenko V, Isachenko E, Rahimi G, Tucker MJ. Potential importance of vitrification in reproductive medicine. *Biol Reprod.* 2002;67:1671-80.
3. Chaves MG, Gonzalez EP, de Abreu Rosas C, Aguero A. Cryopreservation of equine embryos by two vitrification methods. *Theriogenology.* 1997;47:388.
4. Oberstein N, O'Donovan MK, Bruemmer JE, Seidel Jr GE, Carnevale EM, Squires EL. Cryopreservation of equine embryos by open pulled straw, cryoloop or conventional slow cooling methods. *Theriogenology.* 2001;55:607-13.
5. Hochi S, Fujimoto T, Oguri N. Large equine blastocysts are damaged by vitrification procedures. *Reprod Fertil Dev.* 1995;7:113-7.
6. Hochi S, Fujimoto T, Braun J, Oguri N. Pregnancies following transfer of equine embryos cryopreserved by vitrification. *Theriogenology.* 1994;42:483-8.
7. Eldridge-Panuska WD, Caracciolo di Brienza V, Seidel GE Jr, Squires EL, Carnevale EM. Establishment of pregnancies after serial dilution or direct transfer by vitrified equine embryos. *Theriogenology.* 2005;63:1308-19.
8. Araujo GHM, Rocha Filho AN, Burns SD, Burns CM, Moya-Araujo CF, Meira C. Pregnancy rates after vitrification, warming and transfer of equine embryos. *Anim Reprod Sci.* 2010;121:299-300.
9. Squires EL, Cook VM, Voss JL. Collection and transfer of equine embryos. Bulletin No.1. Fort Collins (CO): Animal Reproduction Laboratory; 1985.

10. Battut I, Colchen S, Fieni F, Tainturier D, Bruyas JF. Success rates when attempting to nonsurgically collect equine embryos at 144, 156 or 168 hours after ovulation. *Equine Vet J*. 1998;(Suppl 25):60-2.
11. Flood PF, Betteridge KJ, Diocee MS. Transmission electron microscopy of horse embryos 3-16 days after ovulation. *J Reprod Fertil*. 1982;(Suppl 32):319-27.
12. Oriol JG, Betteridge KJ, Clarke AJ, Sharom FJ. Mucin-like glycoproteins in the equine embryonic capsule. *Mol Reprod Dev*. 1993;34:255-65.
13. Pfaff R, Seidel GE Jr, Squires EL, Jasko DJ. Permeability of equine blastocysts to ethylene glycol and glycerol. *Theriogenology*. 1993;39:284.
14. Legrand E, Bencharif D, Barrier-Battut I, Delajarraud H, Corniere P, Fieni F, et al. Comparison of pregnancy rates for days 7-8 equine embryos frozen in glycerol with or without previous enzymatic treatment of their capsule. *Theriogenology*. 2002;58:721-3.
15. Scott BR, Carwell DB, Hill RA, Bondioli KR, Godke RA, Gentry GT. Evaluation of Capsule Permeability in the Equine Blastocyst. *J Equine Vet Sci*. 2012;32:795-8.
16. Caracciolo di Brienza V, Carnevale EM, Seidel Jr GE, Macon K, Zicarelli L, Squires EL. Establishment of pregnancies after vitrification of equine embryos. *Reprod Fertil Dev*. 2004;16:165.
17. Campos-Chillon LF, Cox TJ, Seidel GE Jr, Carnevale EM. Vitrification in vivo of large equine embryos after vitrification or culture. *Reprod Fertil Dev*. 2006;18:151.
18. Choi YH, Gustafson-Seabury A, Velez IC, Hartman DI, Bliss S, Riera FL, Roldan JE, et al. Viability of equine embryos after puncture of the capsule and biopsy for preimplantation genetic diagnosis. *Reproduction*. 2010;140:893-902.
19. Choi YH, Velez IC, Riera FL, Roldán JE, Hartman DL, Bliss SB, et al. Successful cryopreservation of expanded equine blastocysts. *Theriogenology*. 2011;76:143-52.
20. Diaz F, Bondioli K, Paccamonti D, Gentry GT. Cryopreservation of Day 8 equine embryos after blastocyst micromanipulation and vitrification. *Theriogenology*. 2016;85:894-903.
21. Sanchez R, Blanco M, Weiss J, Rosati I, Herrera C, Bollwein H, et al. Influence of embryonic size and manipulation on pregnancy rates of mares after transfer of cryopreserved equine embryos. *J Equine Vet Sci*. 2017;49:54-9.
22. Ghetler Y, Yavin S, Shalgi R, Arav A. The effect of chilling on membrane lipid phase transition in human oocytes and zygotes. *Hum Reprod*. 2005;20:3385-9.
23. Katkov I, Isachenko V, Isachenko E. Vitrification in small quenched volumes of minimal amount of, with or without vitrificants: basic biophysics and thermodynamics. In: *Vitrification in Assisted Reproduction: A User's Manual and Trouble-shooting Guide*. Tucker MJ, Liebermann J, editors. London: Informa Healthcare; 2007. p. 21-32.
24. Scholz EC. The Problem of Contamination: Open vs. Closed vs. Semi-Closed Vitrification Systems In: Katkov I, editor. *Current Frontiers in Cryopreservation*. IntechOpen; 2012. doi: 10.5772/36556.
25. Wilsher S, Rigali F, Couto G, Camargo S, Allen WR. Vitrification of equine expanded blastocysts following puncture with or without aspiration of the blastocoele fluid. *Equine Vet J*. 2019;51:500-5.
26. Vanderzwalmen P, Bertin G, Debauche C, Standaert V, van Roosendaal E, Vandervorst M, et al. Births after vitrification at morula and blastocyst stages: effect of artificial reduction of the blastocoelic cavity before vitrification. *Hum Reprod*. 2002;17:744-51.
27. Son WY, Yoon SH, Yoon HJ, Lee SM, Lim JH. Pregnancy outcome following transfer of human blastocysts vitrified on electron microscopy grids after induced collapse of the blastocoele. *Hum Reprod*. 2003;18:137-9.
28. Wang C, Feng G, Zhang B, Zho H, Shu J, Lin R, et al. Effect of different artificial shrinkage methods, when applied before blastocyst vitrification, on perinatal outcomes. *Reprod Biol Endocrin*. 2017;15:32.
29. Mukaida T, Oka C, Goto T, Takahashi K. Artificial shrinkage of blastocoeles using either a micro-needle or a laser pulse prior to the cooling steps of vitrification improves survival rate and pregnancy outcome of vitrified human blastocysts. *Hum Reprod*. 2006;21:3246-52.
30. Iwayama H, Hoshi S, Yamashita M. In vitro and in vivo viability of human blastocysts collapsed by laser pulse or osmotic shock prior to vitrification. *J Assist Reprod Genet*. 2011;28:355-61.
31. Darwish E, Magdi Y. Artificial shrinkage of blastocoele using a laser pulse prior to vitrification improves clinical outcome. *J Assist Reprod Genet*. 2016;33:467-74.

32. Desai N, Szeptycki J, Scott M, AbdelHafez FF, Goldfarb J. Artificial collapse of blastocysts before vitrification: mechanical vs. laser technique and effect on survival, cell number, and cell death in early and expanded blastocysts. *Cell Preserv Technol.* 2008;6:181-90.
33. Hur YS, Park JH, Ryu EK, Yoon HJ, Yoon SH, Hur CY, et al. Effect of artificial shrinkage on clinical outcome in fresh blastocyst transfer cycles. *Clin Exp Reprod Med.* 2011;38:87-92.
34. Hiraoka K, Kinutani M, Kinutani K. Blastocoele collapse by micropipetting prior to vitrification gives excellent survival and pregnancy outcomes for human day 5 and 6 expanded blastocysts. *Hum Reprod.* 2004;19:2884-8.
35. Guignot F, Blard T, Barriere P, Gasgogne T, Gaudé Y, Yvon J-M, et al. Easy, quick and cheap technique to cryopreserve Welsh B pony blastocysts. *J Equine Vet Sci.* 2016;41:53.
36. Ferris RA, McCue PM, Trundell DA, Morrissey JK, Barfield JP. Vitrification of large equine embryos following manual or micromanipulator-assisted blastocoele collapse. *J Equine Vet Sci.* 2016;41:64-5.
37. Bielanski A. Biosafety in Embryos and Semen Cryopreservation, Storage, Management and Transport. In: Holt W, Brown J, editors. *Reproductive Sciences in Animal Conservation. Advances in Experimental Medicine and Biology.* Volume 753. New York: Comizzoli Springer; 2014. p. 429-65.

Contact address

Sandra Wilsher, Sharjah Equine Hospital, Sharjah (UAE)
sandrailsher@hotmail.co.uk

How to diagnose and manage anovulatory follicles in the mare

Juan Cuervo-Arango

Cantero, Spain

Introduction

In general terms, an anovulatory follicle (AF) refers to any follicle that reaches a pre-ovulatory size (i.e. ≥ 35 mm in diameter) but subsequently fails to rupture and release the oocyte (ovulation). Depending on its fate, AF can be classified into two categories: Physiological anovulatory follicles (regressing follicles) and Pathological anovulatory follicles (hemorrhagic anovulatory follicles, HAF). Both types of AF are frustrating for the equine practitioner as they can make the reproductive management of brood mares (regressing follicles) difficult and interfere with the fertility of certain mares (HAF).

Physiological anovulatory follicles

This type of follicle is common during the spring transition between the winter anoestrus and first ovulation of the year. Contrary to the pathological HAF, these AF do not luteinize or fill with blood, but regress (become smaller) over time. They may show a slight number of echoic particles in the antrum, but the follicular wall remains thin and non-echoic. Therefore, the mare does not enter dioestrus and soon grows another follicle which may or may not ovulate. Transitional AF are commonly observed during the months of February to April but can extend even up to May. In the author's opinion the best way to manage the transitional AF is by administration of exogenous intravaginal progesterone (such as CIDR, PRID or Cu-mare) for 7 to 10 days. The intravaginal device is inserted when the AF fails to ovulate and removed when a new follicle of 30 to 35 mm has developed. Administration of hCG or GnRH agonists (deslorelin or buserelin) 4 to 5 days after the device's removal is recommended to increase the chances of ovulation.

Pre-ovulatory sized follicles are often observed in dioestrus (8 to 12 days after ovulation) in Thoroughbred and Warmblood cyclic mares. In a small percentage of cases, they can ovulate during dioestrus (so called diestrous ovulations), but most of the times they will become AF. Therefore, if the mare is examined in early estrus (i.e. Day 15 to 17 after ovulation), a large follicle (i.e. 40 to 45 mm) from the previous follicular wave may be present with or without endometrial oedema. These follicles will not response to hCG or GnRH agonist if they have begun atresia. Like transitional AF, dioestrous AF are static (they no longer grow), may show some intrafollicular echoic specks and the wall does not luteinize (remains thin and non-echoic). Attention should be paid to the growth of a second follicle, originating from a new follicular wave, as it will become the ovulatory follicle in 2-3 days.

Hemorrhagic anovulatory follicles

The HAF, also known as the Luteinized Unruptured Follicle (LUF) syndrome is the most common anovulatory condition in the mare. The HAF refers to the ovulatory failure of the preovulatory-sized follicle despite secondary typical signs associated with ovulation, such as the preovulatory surge and LH peak, abrupt decrease in oestradiol, and a gradual increase in progesterone concentration, decreasing endometrial oedema score and normal length of the subsequent dioestrous phase. The HAF fails to rupture (the oocyte is not release and therefore fertilization is not possible), but increases in diameter, the HAF wall thickens and become highly echoic indicating active luteinization. Simultaneously, the follicular antrum fills with increasing amounts of echoic particles which move freely upon ballotement of the ovary. Eventually the HAF contents organize.

The reported incidence in the normal mare population varies from 5-8 % of all cycles but can be dramatically increased to 25-50 % in certain individual mares, so called "repeater mares", in which the HAF may be a serious cause of infertility. In most mares, however, the development of an HAF is isolated to a single cycle in the season, and normal ovulations should be expected in subsequent cycles. The development of HAF is more common during the peak to the end of the reproductive season (June to August), regardless of the mare's age. However, young age appears to be a protective factor.

The cause of the HAF is unknown. However, it has been associated with the use of NSAIDs (Flunixin-Meglumine, Phenylbutazone and Meloxicam), exogenous administration of eFSH to induce superovulation and administration of luteolytic drugs to induce oestrus. Therefore, the use of these drugs should be avoided in mares prone to develop HAF. Anecdotal reports have found an increased incidence of HAF in mares with chronic endometritis. Furthermore, the presence of circulating levels of eCG should be ruled out as a possible cause of chronic HAF development, even in non-pregnant mares, as endometrial cups can be retained after abortion or even normal parturition.

Recent reports have been able to induce experimentally HAF by blocking the intrafollicular production of PGE₂ and PGF_{2α} 24 to 36 h after hCG administration. They concluded that the pathogenesis of the HAF might originate from a dysfunction in the COX-2 expression in the granulosa cells, with the subsequent inhibition of prostaglandins production during the peri-ovulatory period which in turn would block the normal process of ovulation. Normal ovulation and fertility were restored in mares treated with COX-2 inhibitors by intrafollicular administration of 125 µg of dinoprost (PGF_{2α}) and 500 µg of dinoprostone (PGE₂) 30 h after hCG administration. Although this protocol showed promising results in experimentally induced HAF, further research in mares with natural occurring HAF is warranted before it can be recommended for clinical cases. Thus, avoiding the reported risk factors for the development of HAF is the only option that can be recommended for the management of HAF in repeater mares. Furthermore, the recovery of immature oocytes by ovum-pickup followed by ICSI to produce embryos in vitro would be the best option to obtain offspring in valuable, non-Thoroughbred mares with a high incidence of HAF.

Conclusions

The clinician should aim to distinguish the different types of AF based on their ultrasound and oestrous cycle characteristics, so that a proper breeding management can be chosen to optimize the chances of conception.

Contact address

Juan Cuervo-Arango, Cantero S/N 02434 Letur (AB) (Spain)
copicuervo@hotmail.com

Therapeutic practices, clinical reproductive findings and diagnostic options for investigating pregnancy loss in intensively managed Thoroughbred mares

Amanda M de Mestre, Jessica Roach, Anne Kahler, Charlotte Shilton

The Equine Pregnancy Laboratory, The Royal Veterinary College, London, United Kingdom

Introduction

Clinical reproductive management of live covered Thoroughbred mares has changed substantially over the last 50 years. Alongside these changes we have observed significant increases in conception and live foal rates on Thoroughbred farms worldwide between 1970s and 2000. Post 2000, much more modest improvements in fertility parameters have been noted. This presentation first reviews the trends in reproductive outcomes on stud farms over the last three decades and aligns these with changing patterns of therapeutic use. It then discusses diagnostic options available to investigate underlying causes of pregnancy loss, the fertility parameter having shown the least improvement in recent decades.

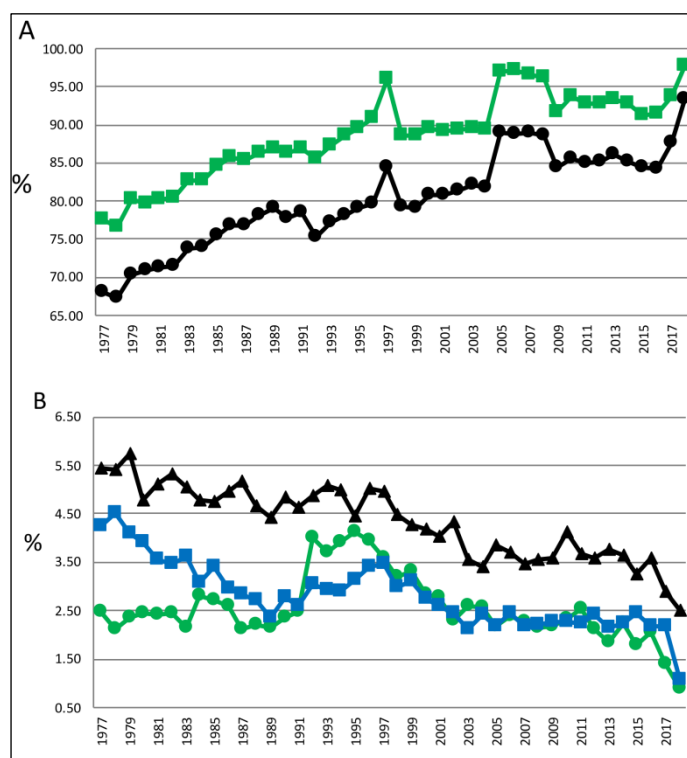


Figure 1. A. Conception (green line) and live foal rates (black line) for mares (14 000 - 22 000 mares per annum) covered by registered TB stallions (400 - 1200 per annum) in the UK and Ireland. B. Pregnancy failure (blue line), abortion (green line) and stillbirth (black line) rates for mares covered by registered TB stallions and who conceived. No returns and mares that died or were exported have been excluded. (Data and graphs provided and reproduced with the permission of Professor Sidney Ricketts and sourced from Weatherbys' Annual Returns for UK and Irish Thoroughbred (TB) Mares).

Fertility measures in intensively managed thoroughbred mares

Large scale databases indicate conception and live birth rates have improved markedly between 1970s and late 1990s and have remained steady and high at around 85-95 % over the ensuing years

(Figure 1). Smaller but more tightly controlled cohort studies across a range of regions broadly align and suggest the per cycle pregnancy rate to have now reached 65-70 % and live birth rate to be 80-85 % (1-5). Studies on research mares have previously demonstrated rates of pregnancy loss between conception and first scan can be as high as 20-30 % (6). Taken together, this suggests we are now at a point where true 'conception' rates in well managed naturally bred thoroughbred mares are estimated to be around 90 %.

Fertility measures post conception in large scale databases indicate a steady reduction of reported stillbirths over the last 40 years (Figure 1B) and a decline in the incidence of early pregnancy losses prior to 1980s but very little change in early pregnancy loss since then. A number of cohort studies worldwide have defined the incidence of early pregnancy loss (EPL) in the Thoroughbreds to fluctuate between 5.5 and 10 % (Table 1) with the majority of this variation likely explained by sampling, regional and year on year variability. There are two broad categories of EPL in the mare: single one-off events which account for approximately 90 % of cases and multiple EPLs (recurrent pregnancy loss) within one season or across adjacent seasons which account for approximately 10 % of cases. In our study of 1754 mares and 2245 pregnancies across two seasons, we identified only two mares that experienced 3 or more EPL episodes across the two seasons and a further 15 mares that experienced 2 EPL episodes (7). Similarly, to EPL, the incidence of abortion reported for a number of thoroughbred cohorts has remained steady over many decades and fluctuates between 3-5 % (Table 1) (1,3,4,7).

Table 1: Incidence of pregnancy loss in intensively managed thoroughbred mares in the United Kingdom and in other regions of the world. nr = not reported

Season	Location	EPL Rate D15-42 (%)	EPL Rate D43-65 (%)	EPL Rate D65 to October (%)	Abortion & stillbirths (%)	Number mares in study	Reference
2002	UK	7.4	4.4		4.5	3372	Allen, 2007 (1)
2013-2014	UK	6.4	3.3 1.6	1.3	4.5	1754	Rose, 2018 (7)
2004	USA	8.9	12.9			1011	Bosh, 2009 (2)
1990-2001	Australia	7.1 (D45)	nr	nr	nr	4455	Nath, 2010 (5)
2007-2009	Japan	5.8 (D35)	nr	nr	nr	1476	Miyakoshi, 2012 (8)
2006-2008	New Zealand	5.5	3			2007	Hanlon 2012 (3)

Changing patterns of therapeutic use

The use of routine stud medicine therapeutics has increased substantially over the last 20 years (Table 2) driven by a desire to improve fertility as well as improve the efficiency and economics of farms (7). Evidence based therapeutic choice is integral to minimising unnecessary interventions. The application of ovulatory agents (human Chorionic Gonadotrophin and Deslorelin) has doubled

over the last twenty years with less than 10 % of thoroughbred mares in a UK study ovulating spontaneously in 2013/14 (Table 2). This aligns with other European countries (9). This has primarily been driven by the need to improve the prediction of ovulation day and thus reduce cross covers. There are other benefits shown such as reduced risk for early pregnancy loss and positive effects on early conceptus growth (unpublished) (10). Earlier in its uptake, there was some concern that hCG increased twinning rates which may in turn have negative consequences on the outcome of the pregnancy. Recent evidence would contradict this: we have found no impact of hCG or deslorelin on risk for conceiving twins (10). Further, should mares conceive twins, these mares would not be considered to be at any greater risk of early pregnancy loss (5,10) when compared with singleton pregnancies. The mechanisms behind such an observation might be explained by the modest increase in serum progestins between days 5 and 15 of pregnancy observed when mares are administered hCG prior to cover and an increase in conceptus size (11), although the effects of hCG on progesterone were not repeated in pony mares (11).

Table 2: Changing practices in commonly used therapeutic agents in Thoroughbred mares between 1998 and 2014. ^aMorris et al, 2002 (12) (n=1144 mares), ^bAllen et al, 2007 (1) (n=2321 mares), ^cThis study (n=1754 mares), na=same therapies utilised but breakdown not available (8)

Therapeutic	1998 ^a	2002 ^b	2013/14 ^c
	%	%	%
Oestrous Induction	28	40	38
Ovulation Induction	51	59	92
Covering therapies	12	33	63
Intrauterine antimicrobials	na	25 ^d	50
Oxytocin/carbetocin	na	28 ^d	50
Intrauterine lavage	na	10 ^d	24

Antimicrobial use in reproductive practice and ecbolics post cover has increased substantially (Table 2) in some but not all regions of the world with the goal of preventing infection and improving the endometrial environment. These different practices align with the vastly different regulatory frameworks present in different jurisdictions. There is evidence that the use of intrauterine antimicrobials in mares that have an accumulation of fluid > 2 cm and risk factors for reproductive failure can lead to improved pregnancy rates, but there is little clinical data to support the use of aggressive management in the majority of mares. There is a real need to find better ways to identify which mares require antimicrobial treatment and which mares could be managed with either no treatment or less aggressive treatments such as ecbolics and saline uterine lavage.

Diagnostic options for pregnancy losses in Thoroughbred mares

A long list of underlying causes of EPL have been described and include chromosomal abnormalities in the mare, poor nutritional status, stress, hormone deficiencies, failure of maternal recognition of pregnancy, degeneration of the endometrium, endometritis, anatomical defects, immunological rejection of the conceptus and damage to sperm chromatin (13-15). Under experimental conditions, ingestion of exoskeleton of processionary caterpillars has also been associated with EPL in a mare (16). In addition, as yet unidentified functional abnormalities are likely

to contribute to losses, as noted in other species. In broad terms, each of these causes of EPL are based on defects being present either in the uterine environment or within the conceptus itself (embryo/fetus and/or placenta). The former of which could be intrinsic to the mare or changes in her physiology due to exposure to environmental factors. Although the above is a long list of possible explanations for EPL, how relevant each of these causes are in well managed Thoroughbred mares is not known, where a diagnosis of the underlying cause of EPL is made in less than 10-20 % of cases (17). Consequently, it is unsurprising that only limited preventative treatment options are currently available to clinicians.

Betteridge and colleagues reported the successful isolation of conceptus tissue from failed early pregnancies under laboratory conditions, and we found a minimum of 25 % of mares suffering EPL present with a failing conceptus as opposed to being 'empty' (14,17). With clinical colleagues, we have developed a method to identify and isolate failed conceptuses from these clinical cases of EPL (18). Provided the retrieved material was placed in a transport media that was supplemented with serum, antibiotics and anti-mycotics, viable cells and DNA could be isolated for further assessment (18). The wide time frames between flushing the conceptus and successful isolation of cells (often up to 48 hours) made this a viable method for application in a clinical setting. These techniques are currently been utilised by veterinary surgeons in the United Kingdom and Ireland to explore underlying causes of EPL in mares under their management. Much work remains to be done to exploit this new methodology but with over 90 conceptuses in our bank, we have recently been able to diagnose and quantify some new causes of EPL. Current unpublished work illustrating the spectrum of fetal morphological and genetic defects that can be found following EPL will be presented.

The proportion of cases of abortion where a diagnosis is reached is higher than EPL, however this still remains a frustration for many clinicians and clients. In our preliminary studies of over 2000 pregnancies (of which 113 aborted), an underlying cause of abortion was reached in approximately 75 % of cases submitted to a diagnostic laboratory and 38.2 % of all abortions. Only 24.8 % of cases presented with no abortus material, distinct to the limitation faced by diagnosing early pregnancy loss. Overall, this supports the value in seeking a diagnosis for cases of abortion. These underlying causes fluctuate greatly across different regions of the world and will be discussed in the presentation.

References

1. Allen WR, Brown L, Wright M, Wilsher S. Reproductive efficiency of Flatrace and National Hunt Thoroughbred mares and stallions in England. *Equine Vet J.* 2007;39:438-45.
2. Bosh KA, Powell D, Shelton B, Zent W. Reproductive performance measures among Thoroughbred mares in central Kentucky, during the 2004 mating season. *Equine Vet J.* 2009;41:883-8.
3. Hanlon DW. Reproductive performance of Thoroughbred mares in the Waikato region of New Zealand: 1. Descriptive analyses. *New Zealand Veterinary Journal.* 2012;60:329-34.
4. Lane EA, Bijnen ML, Osborne M, More SJ, Henderson IS, Duffy P, et al. Key Factors Affecting Reproductive Success of Thoroughbred Mares and Stallions on a Commercial Stud Farm. *Reprod Domest Anim.* 2016;51(2):181-7.
5. Nath L, Anderson G, McKinnon A. Reproductive efficiency of Thoroughbred and Standardbred horses in north-east Victoria. *Australian Veterinary Journal.* 2010;88:169-75.
6. Ball BA, Little TV, Hillman RB, Woods GL. Pregnancy rates at Days 2 and 14 and estimated embryonic loss rates prior to day 14 in normal and subfertile mares. *Theriogenology.* 1986;26(5):611-9.

7. Rose BV, Firth M, Morris B, Roach JM, Wathes DC, Verheyen KLP, et al. Descriptive study of current therapeutic practices, clinical reproductive findings and incidence of pregnancy loss in intensively managed thoroughbred mares. *Anim Reprod Sci.* 2018;188:74-84.
8. Miyakoshi D. Factors Influencing the Frequency of Pregnancy Loss among Thoroughbred Mares in Hidaka, Japan. *Journal of Equine Veterinary Science.* 2012;32:552-7.
9. Newcombe and Cuervo-Arango. What Are the Options for Induction of Ovulation in the Mare in Europe? Buserelin as an Alternative to Human Chorionic Gonadotropin. *Journal of Equine Veterinary Science.* 2017;51:8-17.
10. de Mestre AM, Rose BV, Chang YM, Wathes DC, Verheyen KLP. Multivariable analysis to determine risk factors associated with early pregnancy loss in thoroughbred broodmares, *Theriogenology.* 2019;124:18-23.
11. Köhne M, Ille N, Erber R, Adib Razavi MS, Walter I, Aurich C. Effects of periovulatory gonadotrophin treatment on luteal function and endometrial expression of selected genes in cyclic pony mares. *Theriogenology.* 2016;86(9):2147-55.
12. Morris LH, Allen WR. Reproductive efficiency of intensively managed Thoroughbred mares in Newmarket. *Equine Vet J.* 2002;34:51-60.
13. Lear TL, Lundquist J, Zent WW, Fishback WD Jr, Clark A. Three autosomal chromosome translocations associated with repeated early embryonic loss (REEL) in the domestic horse (*Equus caballus*). *Cytogenet Genome Res.* 2008;120:117-22.
14. Betteridge K, Waelchli RO, Raeside JI, Christie HL, Quinn HO, Hayes MA. Changes accompanying spontaneous embryonic loss in nine mares during the first month of pregnancy. *Journal of Equine Veterinary Science.* 2014;34(1):195-7.
15. Irvine CH, Sutton P, Turner JE, Mennick PE. Changes in plasma progesterone concentrations from days 17 to 42 of gestation in mares maintaining or losing pregnancy. *Equine Vet J.* 1990;22:104-6.
16. Cawdell-Smith AJ, Todhunter KH, Perkins NR, Bryden WL. Exposure of mares to processionary caterpillars (*Ochrogaster lunifer*) in early pregnancy: an additional dimension to equine amnionitis and fetal loss. *Equine Vet J.* 2013;45(6):755-60.
17. Hamstead L, Chang Y-M, Crowhurst J, Wise Z, Ricketts S, de Mestre AM. Retrospective study of early pregnancy loss in Thoroughbred mares. *Equine Vet J.* 2012;44(Suppl.42):2-18.
18. Rose BV, Cabrera-Sharp V, Firth MJ, Barrelet FE, Bate S, Cameron IJ, et al. A method for isolating and culturing placental cells from failed early equine pregnancies. *Placenta.* 2016;38:107-11.

Contact address

Amanda M de Mestre, Reader/Associate Professor in Reproductive Immunology, and Head Equine Pregnancy Laboratory, Mandi (AM) de Mestre, The Royal Veterinary College
ademestre@rvc.ac.uk

How to cope with placentitis

Dale Paccamonti

Louisiana State University

Placentitis remains a major cause of pregnancy loss in mares. Placentitis can result from bacteria ascending through the cervix, arriving hematogenously, or possibly from bacteria residing in the uterus in a dormant state that are somehow reactivated. Premature delivery can result from fetal infection or occur secondary to inflammation of the chorioallantois. The inflammation results in increased production of PGE₂ and PGF_{2α} and increased uterine contractures.

Detection of placentitis often does not occur until the condition is advanced. Typical signs include mammary enlargement and/or vaginal discharge. Numerous studies have been performed to try and find a method for earlier detection, but to date, a “gold standard” has yet to be found. Measurement of the Combined Thickness of the Uterus and Placenta (CTUP) has been shown to be the best diagnostic tool, although it can result in false positive diagnoses. Furthermore, unless a mare is being checked at regular intervals, e.g. monthly or every 2 weeks, by the time a mare is presented for examination because of suspicious signs, if placentitis is present it is often somewhat advanced. Doppler ultrasonography did not detect changes in uterine artery blood flow in infected mares in diagnosing placentitis (1).

Other tests to detect placentitis are non-specific indicators of inflammation, such as serum amyloid A (SAA). Although it is elevated in cases of placentitis, it is also elevated in many cases where inflammation is present, and therefore an increased SAA does not by itself indicate a mare has placentitis. Nonetheless, if an ultrasound exam hints at possible placentitis but the evidence is equivocal, testing SAA may support or discredit the diagnosis.

While in most domestic species progestogens fall prior to parturition, in mares they remain low until 2-3 weeks prior to parturition, then rise fairly dramatically and fall rapidly 1 d before foaling. Because progestogens cross-react with progesterone, they can be “measured” using progesterone assays. Although absolute values vary depending on the assay used and the cross reactivity with various progestogens, lab values can be used to assess trends. Altrenogest does not cross-react and does not affect the results of progesterone assays (2).

While initially it was hoped a single blood test could diagnose placentitis it seemed that the pattern of rise or fall was more useful. Fetoplacental function can be assessed by assaying progestogens in three or more serial samples of maternal plasma obtained at 48 to 72 h intervals (3). In cases of experimentally induced placentitis, two abnormal patterns were identified; a premature rapid decline usually associated with fetal death and rapid abortion, or a precocious increase, where foals were more likely to be delivered alive with a better chance of survival.

A recent field study confirmed the value of endocrine testing in high-risk mares and mares being treated for placentitis (4). Progestogen and estrogen (P&E) concentrations and the CTUP were measured in mares considered at risk. Mares confirmed at risk were treated with tocolytics, antibiotics and progestogens. With stillbirth or abortion, there was an earlier increase in progestogens and an earlier decline in estrogens. When P&E were normal after day 281, there was a 97% chance of a healthy foal. However, when P&E deviated from normal after day 281, the foal survival rate dropped to 30%. When progestogens increased and estrogen decreased after treatment, the rate of loss dropped dramatically.

“Optimal cutoff values” were determined for mares and were found to have high specificity and negative predictive value. When values were within the cutoff boundaries, foal survival was > 95 %. When values were outside of the normal range, survival rates dropped to 70 %. Treatment of

affected mares prior to day 290 of gestation had variable success but after 290 d, treatment improved survival rates to > 80 %. The combined use of endocrine tests and physical exams improved diagnostic and prognostic capabilities (4). Although some could argue that there was no pathological/histological confirmation of placentitis, from a practitioner's viewpoint the reported outcomes make it a tool worth considering.

In a more recent report using the traditional experimental model of ascending placentitis, no differences were detected between treatment and control groups at any time point for progestogens, estradiol, lactate or various allantoic metabolites studied (5). SAA rose in infected mares, but after an increase in CTUP.

Research on equine placentitis typically uses a model employing an infusion of *Streptococcus zooepidemicus* (*Strep zoo*), often resulting in an acute placentitis not truly mimicking what we see in the field. Whether this is due to the dose of *Strep* or the method or site of inoculation, is unknown. LeBlanc et al., noticed two very different patterns after inoculation where some mares developed placentitis very rapidly, with a rapidly increasing CTUP, rapid buildup of exudate, and a purulent vaginal discharge. These mares usually aborted relatively soon after inoculation, within 2 or 3 d. Conversely, other mares had a much slower increase in the CTUP, and a vaginal discharge did not rapidly develop. Mares in the first category, the "acute" group, usually had stillbirths or foals that died soon after birth, while the latter, "chronic" group, although giving birth earlier than expected, often had foals that were precocious and survived. Those in the chronic group had a rise in progestogens, somewhat mimicking that normally seen near parturition. Those in the acute group, on the other hand, had a precipitous drop in progestogens.

In addition to evaluation of CTUP, fetal heart rate, fetal motion and clarity of fetal fluids should be evaluated in mares suspected of having placentitis. Affected fetuses tend to have decreased activity; and cloudy fetal fluids (especially amniotic) in the last 2-3 months of gestation indicate placental pathology. Fetal heart rates < 60 bpm indicate hypoxemia.

For diagnosis of placentitis post mortem, when the placenta is unavailable, stomach contents (and thoracic fluid) of the aborted foal should be collected aseptically. If the abortion/stillbirth is due to bacterially induced ascending placentitis, samples from these sites offer the best chance of diagnosis. Traditionally, treatment consists of 1) antibiotics to eliminate or reduce the offending bacteria, often one that can be given orally for a prolonged time; 2) a tocolytic, to maintain uterine quiescence, usually a progestogen such as altrenogest; and 3) anti-inflammatories to inhibit cytokines that play a role in premature delivery.

Using the typical experimental model, the efficacy of a combination of trimethoprim sulfamethoxazole (TMP/SMZ) (30 mg/kg, PO, q 12 h), altrenogest (0.88 mg/kg, PO, q 24 h) and pentoxifylline (8.5 mg/kg, PO, q 12 h) administered to mares at the first signs of placentitis was studied (6). Treated mares had longer gestation lengths and delivered more viable foals that did not require extensive critical care. The same group found that TMP/SMZ and pentoxifylline without altrenogest delayed delivery but did not result in an improvement in neonatal survivability or prevent preterm delivery (7).

Other antibiotics studied include ceftiofur, which does not cross the placenta (8). Both the short acting and long acting forms were tested in separate studies. Potassium penicillin and gentamicin reached 80 % of serum levels in allantoic fluid, but clearance of penicillin was reduced, indicating treatment intervals could probably be extended (9). Placental transfer of TMP/SMZ, pentoxifylline, K-Pen, and gentamicin occurred in both infected and non-infected mares (9).

The use of estrogen in the treatment of placentitis remains controversial. Studies supporting its use have used small groups of mares and interpretation of data is unclear. The question is whether the lack of estrogen is contributing to pre-term delivery or the result of some other process to which treatment should be directed.

References

1. Bailey CS, Heitzman JM, Buchanan CN, Bare CA, Sper RB, Borst LB, et al. B-mode and Doppler ultrasonography in pony mares with experimentally induced ascending placentitis. *Eq Vet J*. 2012;44(Suppl 43):88-94.
2. Wynn MAA, Esteller-Vico A, Legacki EL, Conley AJ, Loux SC, Stanley SD, et al. A comparison of progesterone assays for determination of peripheral pregnane concentrations in the late pregnant mare. *Theriogenology*. 2018;106:127-33.
3. Morris S, Kelleman AA, Stawicki RJ, Hansen PJ, Sheerin PC, Sheerin BR, et al. Transrectal ultrasonography and plasma progesterone profiles identifies feto-placental compromise in mares with experimentally induced placentitis. *Theriogenology*. 2007;67:681-91.
4. Shikichi M, Iwata K, Ito K, Miyakoshi D, Murase H, Sato F et al. Abnormal pregnancies associated with deviation in progesterone and estrogen profiles in late pregnant mares: A diagnostic aid. *Theriogenology*. 2017;98:75-81.
5. Beachler T, Gracz H, Long NM, Borst L, Morgan D, Nebel A, et al. Allantoic metabolites, progesterone, and estradiol-17 β remain unchanged after infection in an experimental model of equine ascending placentitis. *J Eq Vet Sci*. 2019;73:95-105.
6. Bailey CS, Macpherson ML, Pozor MA, Troedsson MHT, Benson S, Giguere S, et al. Treatment efficacy of trimethoprim sulfamethoxazole, pentoxifylline and altrenogest in experimentally induced equine placentitis. *Theriogenology*. 2010;74:402-12.
7. Graczyk J, Macpherson ML, Pozor MA, Troedsson MHT, Eichelberger AC, LeBlanc MM, et al. Treatment efficacy of trimethoprim sulfamethoxazole and pentoxifylline in equine placentitis. *Anim Reprod Sci*. 2006;94:434-5.
8. Macpherson ML, Giguere S, Pozor MA, Runcan E, Vickroy TW, Benson SA, et al. Pharmacokinetics of ceftiofur sodium in equine pregnancy. *J Vet Pharm Ther*. 2017;40:656-62.
9. Murchie TA, Macpherson ML, LeBlanc MM, Luznar S, Vickroy TW. Continuous monitoring of penicillin G and gentamicin in allantoic fluid of pregnant pony mares by in vivo microdialysis. *Eq Vet J*. 2006;38:520-5.

Contact address

Dale Paccamonti, Vet. Clin. Sci., Louisiana State University (USA)
pacc@lsu.edu

Understanding the host immune response to equine pregnancy

Carleigh E. Fedorka, Shavahn C. Loux, Kirsten E. Scoggin, Mats H.T. Troedsson, Barry A. Ball

University of Kentucky

Adaptive immune response to pregnancy in other species:

The survival of the semi-allogeneic fetus from the attacking maternal immune response has intrigued researchers for centuries. While this phenomenon previously was believed to exist as a graft-host relationship, it was more recently determined to be due in part to a regulation of the effector functions of the adaptive immune system (1). An essential aspect of this are the T cells, which are believed to be crucial for pregnancy maintenance and proper embryo development. Originally, pregnancy was believed to be a balance between the effector T cell populations, and specifically the Th1 and Th2 cell responses (2-4). The invasive properties of placentation and implantation are primarily Th1, or pro-inflammatory events (5,6). An increasing Th2, or anti-inflammatory process, follows this as the fetus matures and the maternal immune system is tolerant to the developing and enlarging of semi-allogeneic tissues (7,8). Finally, as parturition is initiated, this switches back to a Th1 response in order to synchronize contractility and the degradation of tissue adhesion between the endometrium and chorioallantois (9,10). The human develops a large regulatory T cell (Treg) population in both circulation and within the fetomaternal interface during pregnancy, and this suppresses the Th1/Th17 and is key for the regulation and recognition of the fetoplacental unit as not being entirely foreign or requiring attack (11-13). Interestingly, it has been shown that the initial induction of Tregs response is initiated by the seminal plasma of the ejaculate and may assist in the decreased immune response to the paternal antigens that are found within the embryo and surrounding tissues (14,15). The number of circulating Tregs in the human is found to be highest in the second trimester, and then gradually declines towards parturition (16). Additionally, decreased Treg cell populations correlate with preeclampsia, spontaneous abortion, and unexplained infertility in humans (17-19). Because of this, therapeutics targeting pregnancy maintenance are turning towards immunomodulation to increase the production of Tregs during gestation (13,20,21).

Adaptive immune response to pregnancy in the horse:

In the horse, Tregs are induced by stallion seminal plasma, and a lower circulatory Treg population in estrous correlates with an increased risk of early embryonic loss, but minimal work has been conducted on the involvement of Tregs in later stages of pregnancy (14,22,23). Therefore, additional information was necessary to determine T cell involvement in pregnancy maintenance in the horse. Although attention has been paid to immune cells and cytokines in circulation, local production at the fetomaternal interface may be of greater significance (24). The equine pregnancy serves as a remarkable model for the study of this subject, as the bilayered epitheliochorial placentation of the horse allows for increased specificity when examining the dynamics of the fetomaternal interface (25). Therefore, a study was performed to assess the host response to equine pregnancy. Both chorioallantois (CA) and endometrium (EN) were collected at a range of gestational ages, and transcripts relating to each specific T cell lineage were assessed using RNA sequencing on a HiSeq 4000 (Illumina; San Diego, CA). This study found the immune response to equine pregnancy to be in constant fluctuation, with gestational length effecting transcripts relating to Th1, Th2, and Treg cell maturation. While Th1 transcripts only changed within the EN, where they were downregulated in comparison to the nonpregnant, numerous Th2-related transcripts were upregulated in the CA of the pregnant mare. Interestingly, no Th1-related transcripts were affected

within the CA. The CA is an embryo-derived tissue, and therefore considered part of the fetoplacental unit. Because of this, it consists of semi-allogeneic cells, and considered highly susceptible to maternal attack. This may be an evolutionary route for the fetus to minimize potentially damaging degradation and attack by the maternal immune response and adds to the ideology that the fetoplacental unit may play an active role in the immune-modulatory necessities for pregnancy maintenance. Similar to what is noted in the human, Treg-related transcripts increased throughout gestation in comparison to the diestrus EN and then declined prepartum. Interestingly, Treg-related transcripts in the CA differed from that seen in other species, with an initial decline noted at 120 d of gestation, and a secondary decline prepartum. This initial decrease from 45 d to 120 d may be in part due to key differences between the equine pregnancy and other species, including placentation and endocrinology. At approximately day 35 of gestation the equine pregnancy generates endometrial cups, leading to the production of equine chorionic gonadotropin (eCG). At this time, lymphocytes exist within the endometrium, but their activity remains suppressed until approximately 80 days of gestation, at which point they actively attack and degrade the cups, although the signal for this shift is unknown (26). The ratio of lymphocytes within the endometrial cup is predominantly Th1, insinuating that a heightened Th1 response may be necessary for their degradation (27). Therefore, a possible decline in the CA of Treg-related transcripts noted at 120 days gestation may act concurrently with the decline in eCG production and the degradation of the endometrial cups – which do not exist in human pregnancy. As it is a lymphocytic process, and the Tregs suppress overall lymphocyte activity, an alteration in this suppression would be necessary for proper degradation and clearance of these placental structures.

Overall conclusion:

In conclusion, as seen in the human, there is an active and dynamic adaptive immune response to equine gestation. The transcripts that support T cell development and derivation were found in constant fluctuation. While the Th1 transcripts were only affected in the EN where they decreased throughout gestation, the Th2 and Treg-related transcripts were found increased in both EN and CA. The equine pregnancy appears to mimic the human in many ways, although a possible decrease in Treg-related transcripts in the CA at 120 days of gestation is intriguing and may coincide with the lymphocytic degradation of the endometrial cups. Further research is required into this phenomenon, in addition to the evaluation of Treg-stimulating therapeutics and their ability to assist in pregnancy maintenance.

References:

1. Collins MK, Tay CS, Erlebacher A. Dendritic cell entrapment within the pregnant uterus inhibits immune surveillance of the maternal/fetal interface in mice. *J Clin Invest.* 2009;119(7):2062-73.
2. Hadfield KA, et al. Regulated suppression of NF-kappaB throughout pregnancy maintains a favourable cytokine environment necessary for pregnancy success. *J Reprod Immunol.* 2011;89(1):1-9.
3. Sykes L, et al., The Th1:Th2 dichotomy of pregnancy and preterm labour. *Mediators Inflamm.* 2012;2012:967629.
4. Sykes L, et al. Changes in the Th1:Th2 cytokine bias in pregnancy and the effects of the anti-inflammatory cyclopentenone prostaglandin 15-deoxy-Delta(12,14)-prostaglandin J2. *Mediators Inflamm.* 2012;2012:416739.
5. Mor G, et al. Inflammation and pregnancy: the role of the immune system at the implantation site. *Ann N Y Acad Sci.* 2011;1221:80-7.
6. Gnainsky Y, et al. Biopsy-induced inflammatory conditions improve endometrial receptivity: the mechanism of action. *Reproduction.* 2015;149(1):75-85.
7. Saito S, et al. Th1/Th2/Th17 and regulatory T-cell paradigm in pregnancy. *Am J Reprod Immunol.* 2010;63(6):601-10.

8. Mills CD, et al. M-1/M-2 macrophages and the Th1/Th2 paradigm. *J Immunol.* 2000;164(12):6166-73.
9. Mor G, Cardenas I. The immune system in pregnancy: a unique complexity. *Am J Reprod Immunol.* 2010;63(6):425-33.
10. Norwitz ER, et al. Molecular Regulation of Parturition: The Role of the Decidual Clock. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2015;5(11).
11. Figueiredo AS, Schumacher A. The T helper type 17/regulatory T cell paradigm in pregnancy. *Immunology.* 2016;148(1):13-21.
12. Alijotas-Reig J, Llurba E, Gris JM. Potentiating maternal immune tolerance in pregnancy: a new challenging role for regulatory T cells. *Placenta.* 2014;35(4):241-8.
13. Ahmadi M, et al., Regulatory T cells improve pregnancy rate in RIF patients after additional IVIG treatment. *Syst Biol Reprod Med.* 2017;63(6):350-9.
14. Hartmann C, et al. Influences of intrauterine semen administration on regulatory T lymphocytes in the oestrous mare (*Equus caballus*). *Theriogenology.* 2018;118:119-25.
15. Robertson SA, Sharkey DJ. Seminal fluid and fertility in women. *Fertil Steril.* 2016;106(3):511-9.
16. Dimova T, et al. Maternal Foxp3 expressing CD4+ CD25+ and CD4+ CD25- regulatory T-cell populations are enriched in human early normal pregnancy decidua: a phenotypic study of paired decidual and peripheral blood samples. *Am J Reprod Immunol.* 2011;66(Suppl 1):44-56.
17. Sasaki Y, et al. Proportion of peripheral blood and decidual CD4(+) CD25(bright) regulatory T cells in pre-eclampsia. *Clin Exp Immunol.* 2007;149(1):139-45.
18. Sasaki Y, et al. Decidual and peripheral blood CD4+CD25+ regulatory T cells in early pregnancy subjects and spontaneous abortion cases. *Mol Hum Reprod.* 2004;10(5):347-53.
19. Jasper MJ, Tremellen KP, Robertson SA. Primary unexplained infertility is associated with reduced expression of the T-regulatory cell transcription factor Foxp3 in endometrial tissue. *Mol Hum Reprod.* 2006;12(5):301-8.
20. Jafarzadeh S, et al. Intravenous immunoglobulin G treatment increases live birth rate in women with recurrent miscarriage and modulates regulatory and exhausted regulatory T cells frequency and function. *J Cell Biochem.* 2019;120(4):5424-34.
21. Zafardoust S, et al. Efficacy of Intrauterine Injection of Granulocyte Colony Stimulating Factor (G-CSF) on Treatment of Unexplained Recurrent Miscarriage: A Pilot RCT Study. *J Reprod Infertil.* 2017;18(4):379-85.
22. Aurich C, et al. Low levels of naturally occurring regulatory T lymphocytes in blood of mares with early pregnancy loss. *Reprod Fertil Dev.* 2014;26(6):827-33.
23. Inada K, et al. Helios-positive functional regulatory T cells are decreased in decidua of miscarriage cases with normal fetal chromosomal content. *J Reprod Immunol.* 2015;107:10-9.
24. Piccinni MP. T cells in normal pregnancy and recurrent pregnancy loss. *Reprod Biomed Online.* 2006;13(6):840-4.
25. Hafez S. Comparative Placental Anatomy: Divergent Structures Serving a Common Purpose. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2017;145:1-28.
26. Noronha LE, Antczak DF. Maternal immune responses to trophoblast: the contribution of the horse to pregnancy immunology. *Am J Reprod Immunol.* 2010;64(4):231-44.
27. de Mestre A, et al. Split immunological tolerance to trophoblast. *Int J Dev Biol.* 2010;54(2-3):445-55.

Contact address

Carleigh E. Fedorka, Gluck Equine Research Center, University of Kentucky
 carleigh.fedorka@uky.edu

Current research on early pregnancy loss

Claudia Klein

College of Veterinary Medicine, University of Calgary (Canada)

Due to the ease and accuracy of early pregnancy diagnosis as early as 10 days after ovulation, embryonic loss has been recognized as a major cause of reproductive failure in mares. Embryonic loss occurs most frequently within the first two to three weeks of pregnancy and reported incidences prior to Day 45 range from 2.6 to 24 % (1). The cause of early embryonic loss is multifactorial. For example, the incidence increases with age of the mare. In that regard, when embryos retrieved from young and old mares were transferred to young recipient mares, embryo survival was significantly greater for embryos derived from young versus old mares (84 versus 25 %, respectively, for mares that averaged 6 versus 19 years of age) (2). Clearly, embryos derived from aged mares had intrinsic defects predisposing to pregnancy failure. Accordingly, it was recently demonstrated that advanced mare age predisposes to chromosome misalignment after *in vitro* maturation of oocytes (3). Degenerative changes in the endometrium such as peri-glandular fibrosis, which is common in aged mares, is likewise a significant cause of embryonic loss (4). Lower fertility has also been reported for mares bred on their first heat post foaling, specifically a 1.9 times higher likelihood to experience early embryonic death has been observed (5,6). A recent multivariable analysis determining risk factors associated with early embryo loss in Thoroughbred broodmares in the UK identified mare age, having had one previous foal and the presence of uterine cysts with increased odds of pregnancy loss. Use of an ovulatory agent and increasing size of the embryonic vesicle 15 and 16 days after ovulation were associated with reduced odds of losing a pregnancy (7).

Recently, in 46 mares bred by artificial insemination, serum concentrations of acute phase proteins Serum Amyloid A (SAA) and Haptoglobin (Hp) were assessed 12-24 hours before ovulation and 12 and 24 hours and 3, 4, 7, 10, 14, 21, 35 and 55 days after ovulation (8). Forty mares were diagnosed pregnant 14 days after ovulation. However, 15 pregnancies were lost between Day 14 and 21 after ovulation. Serum concentrations of SAA and Hp were consistently elevated, starting 3 and 4 days after ovulation, respectively, in mares that experienced embryonic loss compared to those with sustained pregnancies. Furthermore, in a subset of mares undergoing pregnancy loss, serum SAA concentrations were already elevated at breeding. These results indicate an association between serum acute phase protein concentrations and embryonic loss, presumably indicating subclinical endometritis as the cause of pregnancy failure. No bacteriological examinations were performed following early embryonic loss, making it impossible to determine whether any of the observed losses were of infectious nature.

Embryos identified to be small for the respective day after ovulation upon transrectal ultrasonography undergo a higher rate of embryonic loss (8-10). Likewise a higher rate of subsequent loss has been reported for embryos measuring less than 300 µm in diameter following transfer into recipient mares (11). Cuervo-Arango and co-workers recently demonstrated that the higher rate of embryonic loss observed after the transfer of smaller embryos is due to an intrinsic defect present in the embryo, rather than a relative asynchrony between the embryo and the uterine environment of the recipient mare. Embryos measuring less than 300 µm and embryos great than 300 µm in diameter were transferred to recipient mares 4-5, 6-7, and 7-8 days after ovulation. Rate of early embryonic loss was significantly higher for smaller embryos (21.2 % versus 7.1 %) and was not affected by the state of the recipient mare (12).

The importance of progesterone, specifically a decline in circulating progesterone levels triggering embryonic loss, has been debated for a long time. Addressing the importance of luteal

insufficiency in the context of early embryo loss in a clinical setting is challenging, as daily blood sampling and ultrasonographic examinations are required. Previous reports not entailing daily sampling concluded that luteolysis preceding embryonic loss is a rare event (13,14). Betteridge and co-workers recently published observations on 16 cases of spontaneous embryo loss occurring in mares examined daily within the scope of a research project (184 pregnancies were monitored over 8 breeding seasons). Eleven of those 16 mares carried a singleton pregnancy, five of which were lost before Day 16 (4/5 mares showed preceding luteolysis), and 6 of which were lost after Day 16 (2/6 mares showed preceding luteolysis). Thus 6/11 singleton losses were associated with luteolysis. Five mares experiencing early embryo loss carried twin pregnancies, one case of which was marked by declining progesterone concentrations preceding the loss (15). Continuing embryo growth in the face of baseline concentrations of circulating progesterone was observed, comparable to previously reported in the literature (16,17). Betteridge and co-workers observations suggest that luteolysis preceding embryonic loss is more important than previously assumed. It is unknown whether the fact these mares were research mares that had been subjected to repeated uterine lavages impacted the observations.

References

1. Vanderwall DK. Early Embryonic Loss in the Mare. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2008;28(11):691-702.
2. Ball BA, Little TV, Weber JA, Woods GL. Survival of day-4 embryos from young, normal mares and aged, subfertile mares after transfer to normal recipient mares. *J Reprod Fertil*. 1989;85(1):187-94.
3. Rizzo M, Ducheyne KD, Deelen C, Beitsma M, Cristarella S, Quartuccio M, et al. Advanced mare age impairs the ability of in vitro-matured oocytes to correctly align chromosomes on the metaphase plate. *Equine veterinary journal*. 2019;51(2):252-7.
4. Kenney RM. Cyclic and pathologic changes of the mare endometrium as detected by biopsy, with a note on early embryonic death. *J Am Vet Med Assoc*. 1978;172(3):241-62.
5. Merkt H, Gunzel AR. A survey of early pregnancy losses in West German thoroughbred mares. *Equine veterinary journal*. 1979;11(4):256-8.
6. Meyers PJ, Bonnett BN, McKee SL. Quantifying the occurrence of early embryonic mortality on three equine breeding farms. *The Canadian veterinary journal La revue veterinaire canadienne*. 1991;32(11):665-72.
7. de Mestre AM, Rose BV, Chang YM, Wathes DC, Verheyen KLP. Multivariable analysis to determine risk factors associated with early pregnancy loss in thoroughbred broodmares. *Theriogenology*. 2019;124:18-23.
8. Chevalier F, Palmer E. Ultrasonic echography in the mare. *Journal of reproduction and fertility Supplement*. 1982;32:423-30.
9. Ginther OJ, Bergfelt DR, Leith GS, Scraba ST. Embryonic loss in mares: Incidence and ultrasonic morphology. *Theriogenology*. 1985;24(1):73-86.
10. Adams GP, Kastelic JP, Bergfelt DR, Ginther OJ. Effect of uterine inflammation and ultrasonically-detected uterine pathology on fertility in the mare. *Journal of reproduction and fertility Supplement*. 1987;35:445-54.
11. Carnevale EM, Ramirez RJ, Squires EL, Alvarenga MA, Vanderwall DK, McCue PM. Factors affecting pregnancy rates and early embryonic death after equine embryo transfer. *Theriogenology*. 2000;54(6):965-79.
12. Cuervo-Arango J, Claes AN, Stout TAE. Small day 8 equine embryos cannot be rescued by a less advanced recipient mare uterus. *Theriogenology*. 2019;126:36-40.
13. Irvine CH, Sutton P, Turner JE, Mennick PE. Changes in plasma progesterone concentrations from days 17 to 42 of gestation in mares maintaining or losing pregnancy. *Equine veterinary journal*. 1990;22(2):104-6.
14. Bergfelt DR, Woods JA, Ginther OJ. Role of the embryonic vesicle and progesterone in embryonic loss in mares. *J Reprod Fertil*. 1992;95(2):339-47.

15. Betteridge KJ, Raeside JI, Waelchli RO, Christie HL, Hayes MA. Patterns of conceptus development and of progesterone concentrations in maternal blood preceding spontaneous early pregnancy failure in mares. *Reproduction, fertility, and development*. 2018;30(8):1066-76.
16. Ginther OJ. Embryonic loss in mares: Nature of loss after experimental induction by ovariectomy or prostaglandin F(2alpha). *Theriogenology*. 1985;24(1):87-98.
17. Kastelic JP, Adams GP, Ginther OJ. Role of progesterone in mobility, fixation, orientation, and survival of the equine embryonic vesicle. *Theriogenology*. 1987;27(4):655-63.
18. Krakowski L, Krawczyk CH, Kostro K, Stefaniak T, Novotny F, Obara J: Serum levels of acute phase proteins: SAA, Hp and progesterone (P4) in mares with early embryonic death. *Reprod Domest Anim*. 2011;46(4):624-9.

Contact address

Dr. Claudia Klein, University of Calgary, Faculty of Veterinary Medicine (Canada)
claudia.klein@ucalgary.ca

Caesarean section - decision-making, procedures and results

Claus P. Bartmann

Equine Hospital Aschheim; Clinic for Horses, University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation

Introduction

Dystocia may result from fetal or maternal abnormalities including uterine torsion or neoplasia, obstruction in the reproductive tract or pelvic canal, asymmetry caused by fracture or defects from the abdominal wall. Fetal malposture is the most common cause of equine dystocia, but congenital fetal malformation like limb deformation, arthrogryposis, torticollis or facial scoliosis may also occur as an underlying factor (1,2).

Caesarean section is usually performed as an emergency procedure to resolve dystocia but also because of concurrent maternal disease like colic or laminitis or as an elective surgery (2,3).

Decision making

A decision regarding the method of relieving a dystocia is based on the results of general and thorough obstetrical examination of the mare.

Accurate assessment of fetal presentation, position and posture, whether the fetus is alive, the condition of the genital tract and the general condition of the mare is essential to create a plan for delivery (1,3).

Emergency caesarean section should be performed to relieve a dystocia when a vaginal delivery is thought to be dangerous to a live foal or when delivery of a dead foal could damage the mare's genital tract (2).

Alternate obstetrical procedures include delivery per vias naturales following correction of malposition as assisted or controlled vaginal delivery and fetotomy. Fetotomy is an excellent option for a malpositioned or malpostured foal that can be corrected with a single cut like flexion of the neck with the foal already dead. Total fetotomies with multiple cuts are possible but require experience and may cause uterine and vaginal damage (4,5).

Some malpresentations like the dorsotransverse presentation resulting from a bicornual gestation represent an absolute indication for a caesarean section.

The importance of speed in decision making has been pointed out before (6).

A median time of 60 min from chorioallantoic rupture to delivery for foals that survive and were discharged from the hospital following dystocia has been revealed by Byron et al (7).

Surgical procedures

In mares with dystocia, a high perioperative risk of mortality has been described in a recent study with the associated physiological changes endured during pregnancy together with the emergency nature of most dystocias resulting in stress, pain, dehydration and acid-base and electrolyte disorders being responsible (8). Perianaesthetic mortality in dystocia mares was judged to be very high with 23 % and preoperative and perianaesthetic management practices were found to be contributing factors of mortality and morbidity.

On the other hand, different anaesthetic protocols have been used successfully for caesarean section using xylazine, diazepam and ketamine for anaesthetic induction and maintenance with oxygenized isoflurane. (3,7,9-11) Intraoperative blood pressure requires monitoring and intensive management.

The most common approach for a caesarean section is the ventral midline laparotomy with the mare positioned in dorsal recumbency (6,9,10).

In accordance with Embertson and Freeman et al, the following surgical technique has proven to be reliable (6,9,12).

To avoid contamination of the abdomen from uterine contents, the uterine horn containing the hindlimbs should be extracted and draped so that the incision through the uterine wall and the chorioallantois can be performed extraabdominally. The uterine wall is fixed with Glock uterine forceps or stay sutures close to the incision edges. Following extraction of the foal, the chorioallantois is removed or separated from the endometrium in the surrounding of the incision line. The profuse hemorrhage of the incised edges of the uterine wall may have life-threatening character, so that an initial haemostatic suture is recommended (Fig. 1).

Oxytocin can be administered in the uterine wall to stimulate contraction and reduce haemorrhage.



Fig. 1: Haemostatic suture before closure of the uterus

According to own clinical experience, tocolytic and β_2 -sympathomimetic-active agents like clenbuterol that have been administered before may lead to increased bleeding, what should be considered during hysterotomy. In case of strong haemorrhage, this author recommends an initial mechanical haemostasis with large Doyen forceps placed on the uterine wall close to the incisional edges.

The uterus is generally closed in two layers with a Cushing or Schmieden pattern and a Lembert pattern in the second layer. Following lavage of the exteriorised uterine horn and the abdominal cavity, the abdomen is closed.

Postoperative care includes routine treatment following laparotomy but also thorough monitoring of the reproductive tract with regard to postparturient disorders like retained placenta, endometritis, puerperal sepsis, laminitis or uterine haemorrhage.

Mares undergoing caesarean section frequently retain their placentas compared to those without dystocia (9,13,14).

Complications that are related to the ventral midline laparotomy with hysterotomy include peritonitis, hemoperitoneum, peritonitis, incisional infection and herniation.

Results

Reported survival rates for mares following emergency caesarean section range from 81-91 %. However, survival rates for foals are much poorer and variable from 4-35 % (2,3,7,14). Prolonged dystocia over 90 minutes was associated with the highest number of deaths.

In own patients, survival rate of mares was good with > 90 % but survival rate of foals was very low with 6.6 %. Unfortunately, time from rupture of the chorioallantois to presentation of the mare in a referral clinic often took more time than 90 minutes and the overwhelming number of foals was already dead when the obstetrical examination was performed. This may be a result from a prolonged period to referral but also from an enlarged referral radius for dystocia cases.

Prognosis for a mare delivering a live foal subsequent to dystocia and caesarean section was judged to be good. Foaling rate in the three years subsequent to the surgical treatment was 55 % in a recent study, but rates of 11-100 % have been reported (2,14). Beside of direct effects of the surgery, effects of prolonged dystocia may compromise the anatomical barriers against contamination and result in delayed uterine involution, acute endometritis and metritis, cervical trauma, subacute or chronic infection and intrauterine or intraabdominal adhesion formation (Fig. 2) (14,15).

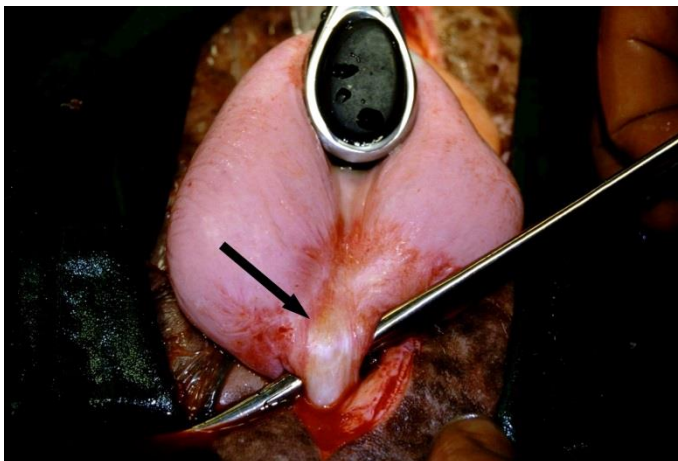


Fig. 2 : Adhesion formation between uterine and abdominal wall (arrow) following caesarean section before adhesiolysis.

Postoperative fertility diagnosis and treatment

The following procedures are recommended in mares following caesarean section in order to achieve maximal breeding efficiency:

- postoperative examination and gynecological treatment of postparturient abnormalities like retained placenta or delayed uterine involution with lochiometra
- at the end of uterine involution transrectal palpation and ultrasonography of the uterus for detection of intraabdominal adhesions of the uterus
- hysteroscopy for detection of intrauterine scar formation or adhesions combined with operative hysteroscopy and adhesiolysis
- clinical and microbiological examination at the end of regular breeding season
- endometrial biopsy for diagnosis of persistent acute endometritis.

Conclusion

In conclusion, caesarean section is a major surgery and the method of choice in case of dystocia if the fetus is alive and the likelihood of successful transvaginal delivery is low. Once the foal has engaged in the maternal pelvic canal, the time to deliver a live foal reduces substantially.

But even in the case of a fetus that is determined dead and multiple fetotomy cuts would be necessary, caesarean section may be indicated because of complicated fetal presentation or a high risk of genital trauma that will impede the mare's future fertility.

Beside of surgical procedures, thorough postoperative diagnostic and therapeutic measures may allow good results with regards to mare's survival and postoperative fertility.

References

1. Grunert E. Geburtsstörungen von seiten der Früchte. In: Grunert E, Arbeiter K, editors. Richter, Götze, founders. Tiergeburtschilfe. 4. Aufl. Berlin: Parey; 1994. p. 248-79.
2. Juzwiak JS, Slone DE, Santschi EM, Moll HD. Cesarean section in 19 mares. Results and postoperative fertility. *Vet Surg.* 1990;19:50-2.
3. Embertson R. The indications and surgical techniques for Cesarean section in the mare. *Equine Vet Educ.* 1992;4:31-6.
4. Frazer GS, Perkins NR, Blanchard TL, Orsini J, Threlfall WR. Prevalence of fetal maldispositions in equine referral hospital dystocias. *Equine Vet J.* 1997;29:111-6.
5. Carluccio A, Contri A, Tosi U, De Amicis I, De Fanti C. Survival rate and short-term fertility rate associated with the use of fetotomy for resolution of dystocia in mares: 72 cases (1991-2005). *J Am Vet Med Assoc.* 2007;230:1502-5.
6. Embertson RM. Dystocia and caesarean sections: the importance of duration and good judgement. *Equine Vet J.* 1999;31:179-80.
7. Byron CR, Embertson RM, Bernard WV, Hance SR, Bramlage LR, Hopper SA. Dystocia in a referral hospital setting: approach and results. *Equine Vet J.* 2003;35:82-5.
8. Rioja E, Cernicchiaro N, Costa MC, Valverde A. Perioperative risk factors for mortality and length of hospitalization in mares with dystocia undergoing general anesthesia: a retrospective study. *Can Vet J.* 2012;53:502-10.
9. Freeman DE, Hungerford LL, Schaeffer D, Lock TF, Sertich PL, Baker GJ, et al. Cesarean section and other methods for assisted delivery: comparison of effects on mare mortality and complications. *Equine Vet J.* 1999;31:203-7.
10. Hopster K, Bartmann CP. Zur Anästhesie der Stute in der Geburt. *Prakt Tierarzt.* 2016;97:44-7.
11. Bidwell LA. Anesthesia for dystocia and anesthesia of the equine neonate. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 2013;29:215-22.
12. Freeman DE, Johnston JK, Baker GJ, Hungerford LL, Lock TF. An evaluation of the haemostatic suture in hysterotomy closure in the mare. *Equine Vet J.* 1999;31:208-11.
13. McCue PM, Ferris RA. Parturition, dystocia and foal survival: a retrospective study of 1047 births. *Equine Vet J Suppl.* 2012;41:22-5.
14. Abernathy-Young KK, LeBlanc MM, Embertson RM, Pierce SW, Stromberg AJ. Survival rates of mares and foals and postoperative complications and fertility of mares after cesarean section: 95 cases (1986-2000). *J Am Vet Med Assoc.* 2012;241:927-34.
15. Bartmann CP, Schiemann V, Bubeck K. Laparoskopische Adhäsionolyse am Urogenitaltrakt des Pferdes. *Pferdeheilkunde.* 2006;22:153-9.

Contact address

Priv.-Doz. Dr. Claus P. Bartmann, Equine Hospital Aschheim
cpbartmann@gmx.de

Retained Fetal Membranes

James R. Crabtree, Rory K. Gormley

Equine Reproductive Services (UK) Ltd. Trigger Castle, North Yorkshire (United Kingdom)

Introduction

In the mare, the fetal membranes are retained if they are not passed in their entirety within 3 hours of parturition. Membranes are retained in up to 10 % of mares and the condition is more common in Friesian's (1-3). Although no studies have demonstrated it, Draft mares have been supposed to be more susceptible than other breeds of horses (4). The allantochorion in the non-pregnant horn of the uterus is the portion most likely to be retained and the condition occurs more frequently in mares which have undergone abortion, dystocia, embryotomy, caesarean section, prolonged gestation, placentitis, hydrops and induction of parturition. Mares that have had retained membranes the season before have a higher incidence of retaining their membranes and those over 15 years of age may be additionally predisposed (1). The cause of membrane retention is unclear however the most likely cause is a disturbance in normal uterine activity and delayed uterine involution which may be primarily due to hormonal imbalances.

Pathophysiology

There are many factors associated with membrane retention but little evidence of a primary underlying cause. Sevinga and co-workers reported a series of 155 Friesian broodmares with normal deliveries and found significantly lower serum calcium concentrations 12 hours postpartum (12.30 mg/dL) in mares with retained membranes, compared with mares that expelled the fetal membranes within 3 hours after normal foaling (12.72 mg/dL) (5). Twenty percent more mares responded to oxytocin and calcium borogluconate vs. oxytocin alone (5) suggesting that hypocalcaemia may be a factor in retained placenta in the Friesian breed. Hypocalcaemia as a cause of uterine inertia could be a primary cause of fetal membrane retention across all breeds and as such calcium may be a potential adjunct to therapy.

In a study of heavy Draft horses by Ishii and co-workers, it was demonstrated that circulating oxytocin concentrations were significantly lower in mares that expelled their placentae after 1 hr post partum compared to mares that expelled their placentae within 1 hr (6). It was suggested that deficiency of oxytocin secretion at foaling should be considered as one of the causes of retained placenta in heavy Draft mares.

Rapacz and co-workers demonstrated pathology of the fetal membranes in Polish heavy Draft mares with retained fetal membranes (7); histological examination demonstrated fibrosis and excessive connective tissue development in the allantochorion in 88 % of Draft mares suffering from retained fetal membranes. The same group at the University of Warmia and Mazury used the same mares, and the same samples to determine oxytocin receptor expression (8). It was demonstrated that oxytocin receptor expression was nearly 50 times less intense in mares with placenta retention compared to control mares. In addition, they demonstrated differences in metalloproteinase mRNA activity and protein content suggesting protease dysregulation in mares with fetal membrane retention (9). Further work is needed to determine if this holds true in other heavy and light horse breeds.

Clinical signs

The obvious sign is the presence of placental tissue protruding from the vulva. This may range from the membranes dragging on the ground to only part of the amnion visible. Examination of the

placenta should always be carried out post-partum with special attention paid to the tips of the horns. If the placenta is torn, then the allantoid surface should be inspected and the placental vessels used as a guide to see if any portions are missing. If the placenta is not complete, then it should be assumed that a portion is retained, and the mare treated accordingly. The consequences of retained membranes range from none, to metritis, laminitis and possibly death. Laminitis occurs secondary to toxic metritis which can occur due to the retention of part of the placenta or areas of microvilli after manual removal, acting as a focus for infection.

Treatment

Membranes that are hanging at the hocks or below should be tied in a knot to avoid the mare standing on and tearing them. If the membranes are retained for two hours, then low dose oxytocin therapy should be initiated with hourly doses of 10-20 IU by intra-muscular administration. The author has not encountered excessive colic with this regimen however the individual mare's response to the initial dose of oxytocin will dictate the subsequent dose size and timing.

Manual removal of retained membranes remains controversial however it is the author's opinion that an initial attempt to remove the membranes manually should be made by 6 hours post-partum if oxytocin therapy has not been successful. A clinical evaluation of the mare should be performed with particular attention to membrane colour and heart rate, 10 IU of oxytocin is then administered intravenously followed by sedation if required. The tail should be bandaged, and the perineum cleansed. If the allantochorionic membrane is not protruding, then this should be located and gentle traction applied. Often the membrane will advance rapidly; if not then it may be necessary to slide a hand gently between the endometrium and the allantochorion to aid separation in the body of the uterus.

A repeat dose of 10-20 IU oxytocin is then administered intravenously before further attempts at manual removal are made. If difficulty in removing the membranes is encountered at any stage an intravenous infusion of oxytocin at a rate of 1.0 IU/min (60 IU in 1L saline administered over 1 hour) is often effective (10). Michelle LeBlanc reported that it was routine for them to administer calcium borogluconate 23 % (150-200 mL in 1 L of saline), followed by 20 IU of oxytocin to mares that have not passed their membranes within 18 to 24 hours (11). These mares would have received a number of doses of oxytocin (20 IU) prior to the calcium treatment. The clinical impression was that most mares pass their membranes within 1 to 2 hours after the combined treatment.

The number of cases that require further therapy will be small and further attempts at manual removal are made with caution. Three options are available, the choice of which will depend on the presentation and clinician preference:

Manual technique: The allantochorion is twisted upon itself to separate the allantochorion from the endometrium (12). The pregnant horn portion of the membrane will often be extracted first leaving the thinner non pregnant horn portion attached; caution has to be taken not to break off this portion. An additional 10-20 IU oxytocin should be administered by the i.v. or i.m. route. It may be necessary to de-bulk the external portion to reduce traction on the remaining part. The vast majority of retained membranes will be removed in this fashion however it is widely accepted that forced extraction of the fetal membranes is contraindicated (10).

The 'Burns technique': The Burns technique can be effective if the retained allantochorion is intact (13). The allantochorion is distended with up to 12 L of a weak (0.1 %) iodine solution in 0.9 % saline through a clean nasogastric tube and held closed with one's hand or tied with umbilical tape or other means. Fluid is maintained in the uterus for up to 30 minutes prior to expulsion. Oxytocin can be supplemented to enhance uterine contractions. It is thought that this technique promotes release of microvilli from the endometrium and subsequent placental release however its disadvantage is that it is only effective when the allantochorion is intact.

Water infusion of the allantochorionic blood vessels; the 'Dutch method': This technique is being pioneered by clinicians at Dierenartsenpraktijk Doetinchem-Zeddam in The Netherlands (14). The technique involves a constant rate infusion the allantochorion with tap water via the umbilical arteries. Meijer and co-workers described application of the procedure in 147 mares of mixed breeds; approximately 92 % of mares expelled their placentas within 5 to 10 minutes of water infusion and an additional 5.5 % of mares expelled their placentas within 15-30 minutes. The procedure 'failed' in 12 mares and this was thought to be due to prolonged membrane retention (> 12 hours) with or without tearing of the fetal membranes.

Manual removal is controversial and is not without its potential complications. It is important to recognise that manual extraction will inevitably lead to retention of microvilli within the uterine wall which will be sloughed into the lumen rather than removed with the placenta. It is therefore essential to perform uterine lavage post manual removal to aid the removal of debris, reduce the bacterial load and stimulate uterine contractions (12). Other potential complications include uterine haemorrhage, uterine horn invagination or intussusception, delay of uterine involution, prolonged cervical patency and pulmonary emboli formation (10,15).

There is a limited body of evidence which demonstrates that the risk of secondary septic disorders following retained fetal membranes may be lower than one might expect. A study by Provencher and co-workers (1) involving 356 cases of retained membranes in Standardbreds that were treated with a combination of oxytocin, systemic antibiotics and/or intrauterine antibiotics, but manual removal was not performed, reported no secondary acute metritis, septicaemia, endotoxaemia or laminitis in any case (1). Elsewhere in the literature, two cases are described in which, respectively, one mare passed a foul-smelling placenta, unassisted, 5 days post-foaling (16), and another mare passed her membranes no less than 13 days postpartum (15). Neither of these patients succumbed to secondary complications. These reports and our experience tell us that some mares appear to be significantly less susceptible to secondary sepsis-associated disease following membrane retention than others. Despite this, experience also tells us that some mares need only to retain a very small placental remnant and they can present in a severely compromised state. Heavy horse breeds also seem to have the potential for rapid deterioration if they retain their membranes. If aggressive therapy is not initiated in such mares the condition can be fatal.

Despite the arguments against, manual removal is still the favoured approach among a large number of practitioners. A recent international survey investigating individuals' approaches to retained membranes found that 30 % perform manual removal from the outset, while 52 % of respondents attempt complete removal if their initial treatment approach fails (17). In this survey, 86 % of respondents were practicing in the USA or Australia and more than half were reproductive specialists. A geographical variation in attitudes towards manual removal was identified, with 63 % of Australian respondents likely to attempt manual removal compared with only 28 % of their North American counterparts. In the UK and Ireland, the attitude among stud practitioners remains largely in favour of manual removal, though this has not been surveyed (18). Manual removal has been advocated as a first option for ambulatory veterinarians who are unable to provide regular follow-ups, as long as it is performed carefully (19).

Medical therapy

Regardless of the method of removal, if the membranes have been retained for 8 hours when the mare is first examined, then systemic antibiotic and anti-endotoxic therapy is indicated. If it is not possible to remove all the membranes, then they should be left in situ and the mare managed with aggressive medical therapy. Systemic therapy with or without intra-uterine therapy should continue until the membranes, or remnant, have been removed and the uterus is involuting satisfactorily. A follow up examination should be mandatory regardless of therapy to ensure that metritis is not present.

Mares that become systemically ill or laminitic often experience a significant drop in milk yield. This, coupled with an increased amount of time lying down can result in rapid dehydration of the neonatal foal. Therefore, extra care should be taken to ensure the foal receives adequate nutrition and hydration from the mare and if this cannot be achieved, supplementation will be necessary.

Metritis

The incidence of metritis is low but increases with birth trauma and retained fetal membranes. It usually presents within 2-4 days post-partum and this is often associated with a pronounced neutropaenia. Inflammation of the uterine wall permits bacteria and toxins to enter the systemic circulation, resulting in bacteraemia and endotoxaemia. Any postpartum mare with fever and anorexia with or without signs laminitis should be suspected of having a metritis. A large volume of toxic, red-brown, watery fluid may accumulate within the postpartum uterus before any obvious vaginal discharge becomes apparent.

Therapy should include broad-spectrum antibiotics, anti-inflammatory drugs and intravenous fluids if indicated. A combination of procaine penicillin (15 mg/kg; b.i.d.) and gentamicin (6.6 mg/kg; s.i.d.) are widely used to provide broad-spectrum systemic coverage however this will be dictated by culture and sensitivity results. Anti-endotoxic doses of flunixin meglumine (0.25mg/kg bwt tid) should be considered as a minimum (20). Oxytocin therapy is essential, and 20 IU oxytocin should be administered every 4-6 hours.

Uterine Lavage

Daily or twice daily large volume uterine lavages with 0.9 % saline solution are a routine part of management for mares with metritis. Homemade (non-sterile) saline can be utilised in the post foaling mare by mixing 90 grams of table salt with 10 L of tap water making a 0.9 % w/v solution. The lavage is repeated until the recovered fluids are free from gross contamination. On the first occasion a weak solution (≤ 0.1 %) of iodine in saline can be used. This is made by placing 1 ml of 10 % stock iodine solution in 1 L of saline giving a 0.1 % (1:1000) solution resulting in 0.01 % iodine vol/vol. Alternatively one uses povidone-iodine which is potentially less irritating to the endometrium (21). Solutions of 0.5 % povidone-iodine are made by adding 5 ml of 10 % stock povidone-iodine solution in 1 L saline giving a 0.5 % (5:1000) solution resulting in 0.05 % povidone-iodine vol/vol. Povidone iodine is approximately 10 % iodine however its absorption via soft tissues is slower and thus toxicity less likely.

For many other authors, removal of toxic and inflammatory substances via uterine lavage is a logical and vital component to the treatment regimen, whilst other believe the procedure may be potentially detrimental, by increasing bacterial translocation and absorption of endotoxin (11,12,15,22-24). The survey by Warnakulasooriya and co-workers found that a quarter of respondents favoured the use of uterine lavage following membrane removal, the majority of whom used sterile isotonic solutions and avoided antiseptics (17). The use of intrauterine antibiotic infusions is controversial however it is possible to infuse a broad-spectrum antibiotic combination of penicillin and gentamicin into the uterus after lavage and it is likely efficacious (25).

Endotoxaemia

If the mare presents with signs of endotoxaemia and/or laminitis then this will need additional management with a minimum of frog support, analgesics and confinement on a deep bed. In addition to flunixin meglumine, the cyclic lipopeptide antibiotic polymyxin B (5,000–10,000 units/kg IV BID–TID), should be considered if available, for its endotoxin-binding properties. Cryotherapy of the feet with cold or, preferably iced water, can delay the onset of laminitis (26). Supportive frog pads or shoes should also be applied. Pentoxifylline (8.5-10 mg/kg PO BID) may provide some benefit in

preventing laminitis by improving blood supply to the foot (22,23). Intravenous fluid therapy may also be indicated.

Prognosis

It has been demonstrated that reproductive performance does not differ between mares with and without retained placenta and mares with and without manual removal of the placenta, assuming appropriate management is provided (1,27,28).

Placental evaluation

Thorough examination of the placenta, when expelled, is an essential component of a clinician's approach to any postpartum mare. Initial familiarisation with the normal placental anatomy, as well as common physiological variations is essential to allow one to identify abnormalities; in order to understand what is abnormal one must first recognise what is normal. The fetal membranes are examined for completeness and the component parts and normal landmarks identified. This is done by first laying the membranes out in an 'F' shape with the non-villous allantoic side outermost (29). The amnion, amniotic and allantoic portions of the umbilical cord and the vascular pattern of the chorioallantois can be assessed. The pregnant (gravid) and non-pregnant horns can be identified with the non-pregnant horn being much thinner. In areas that appear torn, an effort should be made to line up corresponding blood vessels to help ascertain whether a portion is missing or not. The membranes are then turned so that the villous chorionic portion is outermost and the opening usually at the 'cervical star' is inspected. The villous chorionic surface appears velvety with areas devoid of microcotyledons appearing pale and thin. Findings which may appear abnormal to the unfamiliar eye, yet are considered normal include depigmented areas at each horn tip representing the chorionic apposition to the uterotubal junctions; pale sacculations left by the endometrial cups; twisting of the umbilical cord in the absence of obvious oedema, discolouration or haemorrhage; epithelial plaques associated with the cord and amnion; areas of urachal dilatation within the cord; calcified yolk sac remnants.

References

1. Provencher R, Threlfall WR, Murdick PW, Wearly WK. Retained Fetal Membranes in the Mare: A Retrospective Study. *Can Vet J.* 1988;29:903-10.
2. Sevinga M, Barkema HW, Stryhn H, Hesselink JW. Retained placenta in Friesian horses. *Journal Animal Science.* 2004;82:982-6.
3. Sevinga M, Barkema HW, Stryhn H, Hesselink JW. Retained placenta in Friesian mares: incidence, and potential risk factors with special emphasis on gestational length. *Theriogenology.* 2004;61:851-9.
4. Jennings WE. Some common problems in horse breeding. *Cornell Vet.* 1941:197-215.
5. Sevinga M, Barkema HW, Hesselink JW. Serum Calcium and Magnesium concentrations and the use of Calcium-Magnesium-borogluconate in the treatment of mares with retained placenta. *Theriogenology.* 2002;57:941-7.
6. Ishii M, Kobayashi S, Acosta TJ, Miki W, Yamanoi T, Masui M, et al. Relationship between Peripartur Plasma Oxytocin and Prostaglandin F_{2α} Metabolite and Placental Expulsion Time in Heavy Draft Mares. *Journal of Reproduction and Development.* 2008;54(4):270-4.
7. Rapacz A, Paździor K, Raś A, Rotkiewicz T, Janowski TE. Retained Fetal Membranes in Heavy Draft Mares Associated with Histological Abnormalities. *Journal of Equine Veterinary Science.* 2002;32:38-44.
8. Rapacz-Leonard A, Raś A, Calka J, Janowski TE. Expression of oxytocin receptors is greatly reduced in the placenta of heavy mares with retained fetal membranes due to secondary uterine atony. *Equine Veterinary Journal.* 2015;47:623-6.
9. Rapacz-Leonard A, Kankofer M, Leonard M, Wawrzykowski J, Dabrowska M, Rás A, et al. Differences in extracellular matrix remodeling in the placenta of mares that retain fetal membranes and mares that deliver fetal membranes physiologically. *Placenta.* 2015;36:1167-77.

10. Vanderplassche M, Spincemaille J, Bouters R. Aetiology, Pathogenesis and Treatment of Retained Placenta in the Mare. *Equine Veterinary Journal*. 1971;3:144-7.
11. LeBlanc M. Common Peripartum Problems in the Mare. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2008;28(11):709-15.
12. Crabtree J. Peripartum problems in mares 2. Post-partum problems. In *Practice*. 2002;34(8):462-71.
13. Burns SJ, Judge NG, Martin JE, Adams LG. Management of retained placenta in mares. *Proceedings of the annual meeting of the American Association of Equine Practitioners*; 1977; volume 12. p. 381-90.
14. Meijer M, Macpherson ML, Eijkman R. How to Use Umbilical Vessel Water Infusion to Treat Retained Fetal Membranes in Mares. *Proceedings of the annual meeting of the American Association of Equine Practitioners*; 2015; volume 61. p. 478-84.
15. Threlfall WR. Retained fetal membranes. In: McKinnon AO, Squires EL, Vaala WE, Varner DD, editors. *Equine reproduction*. Vol 2. New Delhi (India): Wiley-Blackwell; 2011. p. 2520-9.
16. Mason TA. Retention of the placenta in the mare. *Veterinary Record*. 1971;89:546.
17. Warnakulasooriya DN, Marth CD, McLeod JA, Hanlon DW, Krekeler N. Treatment of Retained Fetal Membranes in the Mare - A Practitioner Survey. *Frontiers in Veterinary Science*. 2018;5:1-9.
18. Gormley RK. Diagnosis and management of retained fetal membranes. *UK-Vet Equine*. 2019;3(2). doi: <https://doi.org/10.12968/ukve.2019.3.2.57>
19. Samper J, Plough T. How to deal with dystocia and retained placenta in the field. *Proceedings of the Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners*; 2012; volume 58. p. 359-61.
20. Semrad S, Moore J. Effects of multiple low doses of flunixin meglumine on repeated endotoxin challenge in the horse. *Prostaglandins, Leukotrienes and Medicine*. 1987;27:169-81.
21. Brinsko S. How to Perform Uterine Lavage: Indications and Practical Techniques. *Proceedings of the annual meeting of the American Association of Equine Practitioners*; 2001; volume 47. p. 407-11.
22. Canisso IF, Rodriguez JS, Sanz MG, Coutinho da Silva MA. A clinical approach to the diagnosis and treatment of retained fetal membranes with an emphasis placed on the critically ill mare. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2015;33:570-9.
23. Pozor M. Equine placenta – a clinician's perspective. Part 2: Abnormalities. *Equine Veterinary Education*. 2016;28(7):396-404.
24. Roberts SJ. *Veterinary Obstetrics and Genital Diseases (Theriogenology)*. 3rd edition. North Pomfret, VT (USA): Woodstock. David and Charles Inc. 1986.
25. Von Dollen KA, Jones M, Beachler T, Harris TL, Papich MG, Lyle SK, et al. Antimicrobial Activity of Ceftiofur and Penicillin With Gentamicin Against *Escherichia coli* and *Streptococcus equi* Subspecies *zooepidemicus* in an Ex Vivo Model of Equine Postpartum Uterine Disease. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2019;79:121-6.
26. van Eps AW, Orsini JA. A comparison of seven methods for continuous therapeutic cooling of the equine digit. *Equine Vet J*. 2016;48(1):120-4. doi: 10.1111/evj.12384.
27. Sevinga M, Hesselink JW, Barkema HW. Reproductive performance of Friesian mares after retained placenta and manual removal of the placenta. *Theriogenology*. 2002;57:923-30.
28. Cuervo-Arango J, Newcombe J. The Effect of Manual Removal of Placenta Immediately after Foaling on Subsequent Fertility Parameters in the Mare. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2009;29(11):771-4.
29. Morresey PR. How to Perform a Field Assessment of the Equine Placenta. *Proceedings of the 50th Annual Congress of the Association of American Equine Practitioners*; 2004; volume 50. p. 409-14.

Contact address

James R. Crabtree and Rory K. Gormley, Equine Reproductive Services (UK) Ltd. Trigger Castle, North Yorkshire (United Kingdom)

New protocols for induction of lactation in the mare and fostering of the newborn foal

Peter Daels, Pouya Dini

Faculty of Veterinary Medicine, University of Ghent (Belgium)

Managing and feeding an orphan foal can be challenging. A mare that has recently lost her foal at an early age or from which the foal was recently weaned can be an inexpensive and effective candidate to raise an orphan foal. However, a mare that has very recently lost her foal tends to have an instinctive aversion towards any other foal that is not hers and fostering the orphan foal to this type of mare can be challenging, even dangerous to foal and handlers, and occasionally impossible. The use of a mare with induced lactation that has neither foaled nor raised a foal in the current foaling season, can be a convenient, safer and effective alternative.

The protocol for induction of lactation is a well-established, safe technique that takes about one week. The original treatment protocol consisted of a combination of estradiol, progesterone (or altrenogest) and a dopamine-D2 antagonist (sulpiride or domperidone) to stimulate prolactin secretion which in turn stimulates mammary development and lactation. Prolactin secretion which is under tonic inhibitory control by dopamine can be stimulating by use of a dopamine antagonist that will result in an increase in prolactin secretion. It has been reported that physiological concentrations of estradiol are essential in the induction of lactation. Ovariectomized and anestrus mares do not produce milk when treated only with a dopamine antagonist whereas pre-treatment or simultaneous supplementation of estradiol during dopamine antagonist treatment will significantly increase the prolactin secretion and result in lactation.

When using the correct protocol, the maternal behavior of a mare with induced lactation is identical to that of mares that raise their own foal. This type of mare has in general no aversion to the strange foal that is presented, and the prostaglandin treatment very effectively triggers the maternal instinct. Most importantly the fostering of a foal to this a mare with an induced lactation is generally safe, quick and simple. Research has demonstrated that the maternal behavior and the bond between the foster mare and the orphan foal is the same as for mares and their natural offspring.

Lactation is induced using the following steps:

1. The selected nurse mare should be a calm, gentle mare, and has given birth at least once in past years. She should have raised a foal and is cyclic (not in anestrus or ovariectomized).
2. Administer estradiol benzoate (50 mg) intramuscularly once on the first day of the treatment protocol or estradiol-17 β (3-5 mg) intramuscularly once daily for 5-7 days during the dopamine antagonist treatment period to enhance prolactin secretion (optional). In countries where estradiol is prohibited for use in food-producing horses (Europe), the induction of lactation without estradiol supplementation appears equally effective on condition that the mare is cyclic (or in transition with significant ovarian activity and uterine edema).
3. Administer a luteolytic dose of a prostaglandin-F2 α (optional). This may induce estrus in cyclic mares and further increase endogenous estradiol production.

4. Initiate dopamine antagonist therapy (domperidone or sulpiride): domperidone (1.1 mg/kg PO, twice daily) or sulpiride (0.5-0.7 mg/kg IM, twice daily) or sulpiride oral (1.5-2 mg/kg, PO, twice daily).
5. After 4-5 days of dopamine antagonist treatment, when the size of the mammary gland is visibly enlarged, start milking 5-6 x/day.
 - Hand milking can be facilitated by administering 1-5 IU oxytocin 2-5 min before milking (optional). A hand-held manual milking device for mares (Udderly EZ Mare Milker™) is highly recommended as it is a very efficient and easy-to-handle device and significantly reduces milking time, discomfort in the mare and stress in both mare and handler.
 - Alternatively, a milking machine (goat-type milking machine) can be used set at 120 aspirations/min, vacuum 22-37 cmHg, and alternation of suction/relaxation ratio of 50/50.
6. Introduce the foal when milk production has increased to > 3 ltrs/day (usually after 2-5 days of milking).
7. After the adoption is completed, continue dopamine antagonist treatment (not estradiol supplementation) for up to one week. In general, a total of 1 to 2 weeks of dopamine antagonist treatment is needed. Treatment for longer than 2 weeks is ineffective as the stimulatory effect of dopamine antagonist treatment on prolactin secretion seems to gradually decrease.
8. During the first days after adoption, when the milk production is still increasing under the stimulation of the frequent suckling of the foal, the foal can be supplemented with milk replacement. Feeding must be done at intervals of > 3 hrs to assure that the foal will continue to nurse frequently from the mare and thereby stimulate milk production. In general, foals either do not take the bottle anymore immediately after adoption or gradually show less interest in the days following adoption.

Fostering the foal to a mare is in general safe, quick and simple for the mare, foal and handlers. A prospective nurse mare should be non-pregnant, tractable, and preferably gentle with people and other horses. She must have foaled and successfully raised at least one foal in the past and preferably not in (winter) anestrus. After successful fostering of the foal, she can be successfully bred without a decrease in fertility or negative effect on lactation.

The fostering technique consists of the following steps:

1. Preferably, the mare has been housed in a calm, rather isolated location for the past days so that she adjusted to her new environment and feels safe in her box. Also, it is advised that she has no direct contact with neighboring horses that may be seen by her as a threat to the foal during the adoption process. Some colleagues have suggested that placing the foal in an adjacent stall in the days prior to the adoption gives the mare and foal time to familiarize with each other. However, we have not added this to our protocol and have not seen a need to do this.
2. Administer 3-4 x the labeled luteolytic dose of a prostaglandin-F_{2α} preparation intramuscularly. We have always used 750-1000 mg cloprostenol (3-4 ml Estrumate®) intramuscularly because it produces strong side-effects which are presumed to be important for the successful triggering of maternal behavior. The use of oxytocin in combination or instead of PGF-2α is ineffective and should be avoided.
3. Wait until obvious side-effects such as sweating, unrest and mild colic are apparent (takes about 15-20 minutes).

4. While restraining the mare at short distance with a lead rope, introduce the foal to the front of the mare and allow the mare to smell and lick the foal. Do not place a twitch on the mare nor sedate the mare.
5. Allow the mare to freely smell and lick the foal and look for signs of maternal behavior (or signs of aggression). Typically, the mare will show impulsive licking and smelling of the foal as well as the typical nickering that is often observed immediately after foaling.
6. Gradually move the foal alongside the mare in the direction of the abdomen and mammary gland. Stimulate contact between the foal and the flanks of the mare to stimulate maternal behavior in the mare and suckling reflex in the foal.
7. With foals that have never nursed a mare it is advised to use the milk bottle to guide the foal under the abdomen into the warm and dark area around the udder to trigger the nursing instinct in the foal.
8. In general, the adoption of the foal, characterized by a total appropriation and actively protecting the foal, takes less than 15 min, at which time the mare and foal can be allowed to move unrestrained, freely together in the box.
9. In < 10% of attempts, the maternal behavior does not kick in. Experience has taught us that a second attempt within 12-24 h with the same mare and foal is often successful and is therefore clearly warranted.
10. What to look for:
 - Within 0-1 minutes, the mare takes a directed, active interest in the foal and starts to smell and lick the foal.
 - Within 5-10 minutes, the licking behavior intensifies, and the mare allows the foal to touch the flank and udder and nurse without any restraint of the mare. The mare will often instinctively lick the foal's hindquarters in an attempt to stimulate nursing behavior.
 - Within 15 minutes, the mare shows overt maternal behavior including: following the foal, taking the typical posture to present the mammary gland to the foal during nursing, showing protective, aggressive behavior towards other horses. When in doubt about the maternal bond with the foal, removed the foal gradually out of sight. If the maternal bond is established the mare will display separation anxiety and attempt to follow the foal.

Additional reading

1. Daels PF. Fostering of foals. Proceedings of the Annual Congress of the British Equine Veterinary Association BEVA. 2018. <https://www.ivis.org/proceedings/beva/2018/BEVA2018.pdf> 2018 [Internet].
2. Stoneham S, Morresey P, Ousey J. Nutritional management and practical feeding of the orphan foal. Equine Veterinary Education. 2017;29:165-73.
3. Paradis MR. Feeding the orphan foal. Proceedings of the 58th Annual Convention of the AAEP. 2014. <http://www.ivis.org/proceedings/aaep/2012/Paradis2.pdf> 2014 [Internet].

Videos shown during the presentation can be viewed on YouTube:

<https://youtu.be/YohQmwxajgk> ; <https://youtu.be/s7d0hWbKMo4> ; <https://youtu.be/cePBFV4EPRU> ; <https://youtu.be/KoAW05QG1sU>

Contact address

Peter Daels, peter.daels@ugent.be

